



Les sécoiridoïdes d'Olea europaea et du Lonicera tatarica : matières premières destinées à la conception de nouveaux synthons chiraux pour la synthèse de composés biologiquement actifs et outils pour le développement de nouvelles méthodes d'extraction et de synthèse

Hugues Lemoine

► **To cite this version:**

Hugues Lemoine. Les sécoiridoïdes d'Olea europaea et du Lonicera tatarica : matières premières destinées à la conception de nouveaux synthons chiraux pour la synthèse de composés biologiquement actifs et outils pour le développement de nouvelles méthodes d'extraction et de synthèse. Médecine humaine et pathologie. Université René Descartes - Paris V, 2012. Français. NNT : 2012PA05P630 . tel-00923156

HAL Id: tel-00923156

<https://theses.hal.science/tel-00923156>

Submitted on 2 Jan 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE PARIS DESCARTES

FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

ECOLE DOCTORALE DU MEDICAMENT, DE TOXICOLOGIE, DE CHIMIE ET DE
L'ENVIRONNEMENT

Année 2012

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS DESCARTES

Spécialité Pharmacognosie-Chimie des substances naturelles

Hugues LEMOINE

Les sécoiridoïdes d'*Olea europaea* et du *Lonicera tatarica* : matières premières destinées à la conception de nouveaux synthons chiraux pour la synthèse de composés biologiquement actifs et outils pour le développement de nouvelles méthodes d'extraction et de synthèse.

Thèse dirigée par Pr Brigitte Deguin

soutenue publiquement le 30 Novembre 2012

Membres du jury :

Dr. Rachid BENHIDA

Dr. Maurice MEDEBIELLE

Pr Elisabeth SEGUIN

Pr Pierre VOGEL

Pr Sylvie MICHEL

Pr Brigitte DEGUIN

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

Cette version du manuscrit est une version de diffusion protégée par une *licence Creative Commons* suivante : Paternité-Pas d'utilisation commerciale-Pas de modification.

Plus d'informations sur cette license sont disponibles sur <http://creativecommons.org>

La partie expérimentale de ces travaux peut être obtenue en contactant l'auteur :
hugues.lemoine@cpe.fr

This version of this manuscript is a version for distribution and is protected by a *Creative Commons* license: Attribution-NonCommercial-NoDerivs

More information about this license is available on <http://creativecommons.org>

The experimental procedures can be obtained by contacting the author:

hugues.lemoine@cpe.fr



Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de Pharmacognosie de la Faculté de Pharmacie de l'université Paris Descartes (UMR CNRS 8638) sous la direction du Pr Brigitte Deguin.

Je souhaite tout d'abord remercier vivement les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail.

Monsieur **Rachid Benhida**, directeur de recherche au Laboratoire de Chimie des Molécules Bioactives et des Arômes de l'Institut de Chimie de Nice.

Monsieur **Maurice Médebielle**, directeur de recherche au Laboratoire de Synthèse de Molécules d'Intérêt Thérapeutique de l'ICBMS de Lyon.

Qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail de thèse.

Monsieur **Pierre Vogel**, professeur à l'Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne,

Madame **Elisabeth Seguin**, professeur à l'université de Rouen

Madame **Sylvie Michel**, professeur à l'université Paris Descartes

Madame **Brigitte Deguin**, professeur à l'université Paris Descartes

Qui m'ont l'honneur de siéger dans ce jury.

Je remercie le professeur Brigitte Deguin, de m'avoir proposé ce sujet nouveau et d'en avoir effectué la direction. Je la remercie pour son encadrement, la grande autonomie qu'elle m'a accordée tout au long de ce travail, et pour les nombreuses corrections de ce manuscrit.

Je remercie aussi le professeur Michel Koch pour avoir initié la thématique iridoïdes au laboratoire et le professeur Pierre Vogel pour l'intérêt qu'il a porté au sujet, pour sa disponibilité et pour ses nombreux conseils.

J'ai une pensée particulière pour le professeur François Tillequin, qui m'a accueilli avec enthousiasme dans son laboratoire. Il aimait partager son savoir encyclopédique de la pharmacognosie, sa culture littéraire et historique et son amour du bon vin (de Bourgogne !) en toute simplicité. J'ai énormément appris en le côtoyant pendant plus d'un an. Il nous a quittés bien trop tôt, mais sa pensée de scientifique humaniste, digne héritière des Lumières, m'accompagnera toujours.

Je souhaite remercier le professeur Sylvie Michel, qui m'a encouragé tout au long de ces trois années et m'a fait confiance. Je remercie aussi le professeur Marie-Christine Lallemant pour sa bonne humeur, son Chianti et ses coups de gueules.

Merci à tous les membres du laboratoire, Thomas Gaslonde, sans qui le labo ne tournerait pas, Hanh Dufat pour sa gentillesse, Sabrina Boutefnouchet qui m'a fait partager sa passion pour les plantes médicinales et aromatiques, Marina Kritsanida pour ses conseils sur la phytochimie des *Lonicera*, Xavier Cachet pour ses conseils d'expert de la chimie des iridoïdes et pour ses compétences en chimie analytique. Raphaël Grougnet qui m'a initié à la phytochimie, et à l'enseignement de la pharmacognosie en TP, et avec qui j'ai eu de nombreuses discussions passionnantes sur les produits naturels issus de la vigne ! François-Hugues Porée qui m'a donné énormément de conseils en chimie organique, qui a toujours su trouver du temps pour me montrer des « trucs » de paillasse, et pour m'encourager.

Un grand merci à Fabienne, Maryse et Olivier qui tiennent « la baraque » et qui sont toujours disponible pour nous aider. Merci aussi à Philippe Michel, responsable du Jardin Botanique qui a pris soin de « mes plantes ».

Je tiens à remercier mes collègues de paillasse avec lesquels j'ai passé de très bons moments : Ludovic et Missam, Christelle, Sophie, Joseph, Alicia, Malai, Inana, Mays, Nabila, Chouaha, Linh, Jérémy, Alban, Audrey et Cédric. Je remercie aussi Yann et Anthony pour les motivations à la Montagne ou à l'Académie.

Plus particulièrement je souhaiterais remercier Nadia pour son expertise en phytochimie et pour les nombreux conseils qu'elle m'a donnés pour ma présentation à New-York. Je la remercie aussi pour le vent de fraîcheur qu'elle a amené au labo, et surtout pour avoir subi avec le sourire, mes interprétations vocales de variétés françaises pendant plusieurs mois.

Je remercie très vivement Dean, pour sa bonne humeur, pour tous ses précieux conseils en chimie organique, pour m'avoir montré comment faire l'étude cinétique, pour toutes les corrections de mes posters et de mon chapitre 3 et aussi pour toutes nos discussions scientifiques ou non autour d'une pinte de Picon.

Je remercie les membres de l'UMR8638, notamment Janick Ardisson pour m'avoir permis d'utiliser l'ozoneur et Geoffroy Sorin pour m'avoir montré comment m'en servir. Je remercie Pascale Lemoine pour la réalisation des spectres de masse dans des conditions très difficiles. Je tiens aussi à remercier Elise Prost pour sa gentillesse et ses encouragements, mais aussi parce qu'elle a passé beaucoup de temps à me montrer comment utiliser la RMN autrement qu'en routine, elle m'a aidé à monter pratiquement des manips qui restait théorique pour moi. Grâce à elle je ne vois plus un spectro comme une grosse boîte noire. Je remercie Laurent Micouin pour m'avoir fait confiance dans les moments clés. Je remercie très chaleureusement Thomas Lecourt pour tous ses conseils avisés, les longues discussions scientifiques que nous avons eu ensemble ont été très enrichissantes et il a été là jusqu'au bout pour me soutenir et me pousser. Merci à Philippe Belmont d'avoir apporté un peu de soleil et de

lyonnaises dans l'UMR. Je remercie aussi Mélissa, Aurélie, Shabbair, Eric, Aurélien, Sabrina, Marie, Julien et Gilles pour leur bonne humeur.

J'adresse aussi un très grand Merci à tous mes potes, Normands ou « Lyonnais » avec lesquels je passe des moments exceptionnels. Dans la bande des Normands, je remercie Pidou, notre agriculteur-entrepreneur qui est toujours là quand on a besoin de lui, qui nous accueille dans son Grenier depuis des années, et qui fait le meilleur 44 du monde, c'est grâce à toi si notre bande de potes est aussi soudée. Merci aussi à tous les garennes : Antoine, Gérald, Florian, Philippe, Jérôme, Régis, Ben, Hélène, Benoît, Adèle, Elise, Guillaume, Sybille, Claire, Antoine, changez pas les copains !

Du côté des « Lyonnais », je remercie la Brute, Fab, Killy, Grass, Lolo, Thomas, Laure, Coco, Polo et Raph, d'être toujours au taquet. Je remercie aussi ceux qui sont devenus parisiens (Max, Morgane, Burt, Cam, Simon, CH, Marie) de m'avoir accompagné pendant ces trois ans dans les bars de la capitale. Merci à JB pour nous avoir fait découvrir le Studio et pour sa motivation communicative et un bon gros Za à Truand, les mecs ça y est on l'a fait ! Une pensée aussi à tous les autres copains qui vont devenir docteur cette année : Bruno, Flok, LP, Arthur, Tristan.

Merci à Chloé qui m'a supporté pendant ces trois années et qui me supporte encore.

Enfin je voudrais remercier très chaleureusement mes parents qui m'ont toujours soutenu dans cette voie depuis qu'ils m'ont offert un Chimie2000 à Noël. Ils ont toujours eu confiance dans les choix que j'ai fait, c'est grâce à eux que j'ai pu arriver jusqu'ici et je leur en serai toujours reconnaissant. Je remercie aussi mon frère pour avoir essayé de comprendre l'intérêt mon travail et pour les bons moments passés ensemble. Je remercie toute ma famille, notamment Marie-Pierre, Thierry, Jean-Baptiste, Marianne et mes deux grand-mères Odile et Micheline pour leurs soutiens. J'ai aussi une pensée pour mes grands-pères qui m'ont tous les deux transmis leur amour de la terre et de la Nature.

Tables des matières

Tables des matières	1
Liste des abréviations	7
Introduction générale	9
Chapitre 1 Introduction	11
1. Les iridoïdes dans le règne végétal	11
1.1 Définition	11
1.2 Classification	12
1.2.1 Hétérosides d'iridoïdes	12
1.2.1.a) Iridoïdes carbocycliques	13
1.2.1.b) Sécoiridoïdes	14
1.2.1.c) Bis-iridoïdes	15
1.2.2 Iridoïdes simples	15
1.2.3 Alcaloïdes monoterpéniques	16
1.3 Origine biosynthétique	18
2. Propriétés biologiques et pharmacologiques	20
2.1 Rôle des iridoïdes dans l'écologie végétale	20
2.2 Propriétés pharmacologiques	20
3. Les sécoiridoïdes comme matière première chirale naturelle	21
3.1.1 Alcaloïdes indolo-monoterpéniques	21
3.1.2 Alcaloïdes isoquinoléino-monoterpéniques	24
4. Iridoïdes : matières premières chirales en synthèse chimique	25
4.1 Le sécologanoside : matière première d'hémisynthèse	25
4.1.1 Synthèse d'alcaloïdes indolo-monoterpéniques à partir du sécologanoside	25
4.1.1.a) Synthèse de yohimbanes	25
4.1.1.b) Synthèse d'hétéro-yohimbanes	26
4.1.1.c) Synthèse de l'antirhine	27
4.1.1.d) Synthèse de la camptothécine	28
4.1.1.e) Synthèse d'aspidospermanes	30
4.1.1.f) Synthèse d'alcaloïdes des <i>Cinchona</i>	31
4.1.1.g) Synthèse des alcaloïdes de l'Ipéca	32
4.1.2 Synthèse d'alcaloïdes monoterpéniques hétérosidiques	34
4.1.2.a) Synthèse de la dihydrocadambine et de la cadambine	34
4.1.2.b) Synthèse du lyaloside	35
4.1.2.c) Synthèse du néoalangsine	35
4.1.3 Synthèse du bakankoside	36
4.1.4 Les analogues de sécologanoside	37
4.1.4.a) Dihydroxylation du sécologanoside et du sweroside	37
4.1.4.b) Epoxydation du sweroside et du sécologanoside	39
4.1.4.c) Analogues de sécologanoside par modification des fonctions ester et vinyle	40
4.2 Le sweroside comme matière première chirale	42
4.2.1 Synthèse des aglycones de sweroside	42
4.3 Réactivité de l'oleuropéine	45

4.3.1	Détermination de la structure de l'oleuropéine	45
4.3.2	Hydrolyse du glucose de l'oleuropéine	45
4.3.3	Réduction des esters de l'oleuropéine	46
4.3.4	Hydrolyse des esters de l'oleuropéine	48
4.3.5	L'oleuropéine comme matière première pour la synthèse des nudifloside A et D	49
Chapitre 2	Extraction et isolement des matières premières	51
1.	Extraction et isolement de l'oleuropéine	51
1.1	Introduction	51
1.1.1	L'oleuropéine dans <i>Olea europaea</i>	51
1.1.2	Les autres sources d'oleuropéine	52
1.1.3	Composition phytochimique d' <i>Olea europaea</i>	54
1.2	Techniques d'extraction	55
1.2.1	Bibliographie	55
1.2.2	Travaux Personnels	56
1.2.2.a)	Pré-purification par résine XAD-4	56
1.2.2.b)	Purification sur silice et rendement d'extraction	57
1.3	Avantages de la méthode	57
1.4	Résumé du procédé d'extraction	58
2.	Procédé vert d'extraction et d'isolement du sécologanoside et du sweroside	59
2.1	Bibliographie et choix de la plante	59
2.1.1	Les sources de sécologanoside	59
2.1.2	Les sources de sweroside	60
2.1.3	Choix du <i>Lonicera tatarica</i> comme source de sécologanoside et de sweroside	63
2.2	Technique d'extraction et d'isolement	64
2.2.1	Les différentes techniques d'extraction et d'isolement	64
2.2.2	Travaux personnels	64
2.2.2.a)	Test préliminaires	64
2.2.2.b)	Mise au point d'une technique simplifiée d'extraction	65
2.2.2.c)	Purification et rendement d'extraction	66
2.2.2.d)	Résumé du procédé d'extraction classique	67
2.3	Optimisation de l'extraction et de la purification	68
2.3.1	Extraction sous pression	68
2.3.1.a)	Description de la technique et de l'appareillage	68
2.3.1.b)	Extraction sous pression des feuilles de <i>Lonicera tatarica</i>	69
2.3.1.c)	Comparaison avec l'utilisation d'un extracteur classique	69
2.3.2	Séparation par CPC	70
2.3.2.a)	Description de la technique et de l'appareil	70
2.3.2.b)	Mise au point d'une méthode de séparation par CPC	72
2.3.2.c)	Analyses HPLC de l'extrait et des fractions obtenues par CPC	73
2.3.3	Comparaison des méthodes classique et optimisée	77
2.3.3.a)	Tableau comparatif	77
2.3.3.b)	Extrapolation d'échelle	78
2.4	Etudes des tiges	78
2.4.1	Extraction des tiges sous pression	78
2.4.2	Profil HPLC de l'extrait aqueux et séparation des produits majoritaires par CPC	79
2.4.3	Hypothèses d'écologie chimique	80
3.	Conclusion du chapitre 2	82

Chapitre 3 Etude de l'ouverture de lactone par le TMSNa : application au sweroside et à ses dérivés	83
1. De la difficulté d'ouvrir la lactone du sweroside	83
1.1 Rappels bibliographiques	83
1.2 Essai d'ouverture de la lactone du sweroside	84
1.2.1 Pivaloylation du sweroside	84
1.2.1.a) Essai d'ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside	84
2. Généralités sur les triméthylsilanolates	85
2.1 Préparations et propriétés du TMSNa	85
2.1.1 Préparations du TMSNa	85
2.1.2 Propriétés acido-basique et structurales	85
2.2 Réactivité nucléophile des triméthylsilanolates	86
2.2.1 Hydrolyse d'ester par les silanolates	86
2.2.1.a) Hydrolyse d'ester méthylique	86
2.2.1.b) Hydrolyse d'esters d'alcools secondaires et aromatiques	88
2.2.2 Formation de sels de N-(trifluorométhylsulfonyl)trifluorométhanesulfinimide par les silanolates	90
2.2.3 Hydrolyse de dialkylphosphonates par TMSOK	90
2.2.4 Ouverture d'oxazolidinones par TMSOK	91
2.2.4.a) Ouverture d' 1,3-oxazolidin-2-ones	91
2.2.4.b) Ouverture d' 1,3-oxazolidin-5-ones	91
2.2.5 L'anion TMSO ⁻ comme équivalent synthétique de l'ion hydroxyde	92
2.2.5.a) Substitution nucléophile aromatique par déplacement de fluorure	92
2.2.5.b) Substitution nucléophile aromatique par déplacement de chlorure	92
2.2.5.c) Addition de type Michael sur des 1-(phénylthio)-1-nitroalcènes	92
2.2.6 Synthèse de dérivés aminés	93
2.2.6.a) Synthèse d'amine par réaction de Curtius modifiée	93
2.2.6.b) Hydrolyse de nitrile par le TMSOK pour la synthèse d'amine primaire	93
2.2.6.c) Synthèse de cinnamamides à partir d'aldéhydes aromatiques et d'acétonitrile en présence de TMSOK	94
2.3 Réactivité basique des triméthylsilanolates	94
2.3.1 Formation d'oléfines par élimination	95
2.3.1.a) A partir de β -méthoxy- β -(triméthylsilyl)éthylcétones	95
2.3.1.b) A partir de sels d'iminiums	95
2.3.1.c) A partir de sulfone d'aryle	95
2.3.2 Réactions de couplage croisé	95
2.4 Double réactivité du triméthylsilanolate de sodium	96
2.4.1 Ouverture des iodolactones d'iridoïdes par TMSNa	96
3. Ouverture de lactones commerciales par le TMSNa	98
3.1 Conditions réactionnelles	98
3.2 Etendue de la réaction	99
3.3 Hypothèse de mécanisme et contradiction avec les produits isolés	101
4. Etude mécanistique de l'ouverture de lactone par le TMSNa	102
4.1 Conditions expérimentales	102
4.2 Dosage des réactifs utilisés	102
4.2.1 Estimation de la quantité d'eau dans le DMSO-d ₆ par RMN ¹ H	102
4.2.2 Dosage du TMSNa par titration acido-basique	104

4.2.2.a)	Dosage par RMN ^1H	105
4.2.3	Estimation de la quantité d'eau dans la γ -butyrolactone par RMN ^1H	107
4.3	Espèces observées par RMN au cours de la réaction.....	109
4.4	Liste des pKa des espèces présentes dans le milieu.....	112
4.5	Etude cinétique.....	115
4.5.1	Hypothèse mécanistique et équation bilan.....	115
4.5.2	Influence du NaOH sur la vitesse d'ouverture de la γ -butyrolactone.....	116
4.5.2.a)	Temps de demi-réaction entre le TMSNa et la γ -butyrolactone en conditions équimolaires.....	116
4.5.2.b)	Temps de demi-réaction entre le NaOH et la γ -butyrolactone en conditions équimolaires	117
4.5.3	Equation cinétique.....	118
4.5.3.a)	Théorie.....	118
4.5.3.b)	Conditions expérimentales.....	119
4.5.3.c)	Suivi de la réaction avec un excès de TMSNa.....	120
4.5.4	Suivi de la réaction avec un excès de lactone.....	123
4.5.5	Calcul du coefficient de vitesse.....	128
4.5.5.a)	Excès de TMSNa.....	128
4.5.5.b)	Excès de γ -butyrolactone.....	129
4.5.6	Validation de l'équation de réaction.....	130
4.6	Effet de la substitution en C4 sur la cinétique de la réaction.....	130
4.7	Piégeage par un électrophile.....	132
4.7.1	Utilisation de MeI.....	132
4.7.2	Utilisation du bromure de 4'-bromophénacétyle.....	132
4.8	Conclusion et perspectives à propos du mécanisme.....	133
5.	Extension de la réaction au sweroside et à ses dérivés.....	134
5.1	Ouverture de la lactone du sweroside.....	134
5.1.1	Ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside par le TMSNa.....	134
5.2	Ouverture de lactone des dérivés du sweroside.....	134
5.2.1	Synthèse des dérivés de sweroside.....	134
5.2.1.a)	Synthèse des diols.....	134
5.2.1.b)	Protection du diol et séparation des diastérisomères.....	135
5.2.1.c)	Synthèse de l'époxyde.....	135
5.2.2	Application de la réaction d'ouverture de lactone sur les analogues de sweroside.....	136
5.2.2.a)	Essai d'ouverture de la lactone du mélange de diols 287.....	136
5.2.2.b)	Ouverture de la lactone des diols protégés.....	136
5.2.2.c)	Ouverture de la lactone de l'époxyde (S)-289b.....	137
5.2.2.d)	Ouverture de la lactone de l'époxyde (R)-289a.....	137
5.2.3	Conclusion.....	139
Chapitre 4	Accès à des analogues de sécologanoside à partir du sweroside et de l'oleuropeine.....	141
1.	Synthèse à partir du sweroside.....	141
1.1	Accès au sécologanoside.....	141
1.1.1	Rappels bibliographique.....	141
1.1.2	Travaux personnels.....	143
1.1.2.a)	Synthèse étape par étape.....	143
1.1.2.b)	Synthèse en 3 étapes séquentielles.....	145
1.2	Accès aux dérivés dihydroxylés du sécologanoside.....	150

1.3	Accès aux dérivés époxydés du sécologanoside	151
2.	Synthèse d'un nouvel analogue isomérique du sécologanoside à partir de l'oleuropéine.	152
2.1	Réactivité de l'ester 3,4-dihydroxyphénylique vs l'ester méthylique	152
2.1.1	Essai de réduction directe de l'oleuropéine	153
2.1.1.a)	Par NaBH_4	153
2.1.1.b)	Par LiAlH_4	155
2.1.1.c)	Par le DIBAL-H	155
2.1.2	Saponification sélective de l'ester phénolique	155
2.1.2.a)	Traitement de l'oleuropéine par la soude	155
2.1.2.b)	Traitement du perpivaloyloleuropéine (325) par le DBU	156
2.1.2.c)	Traitement du perpivaloyloleuropéine par le TMSO^{Na}	157
2.2	Obtention du 9-dehydro-10-(H)-perpivaloylsécologanoside	157
2.2.1	Réduction sélective de l'acide carboxylique	157
2.2.2	Oxydation de l'alcool	158
2.3	Etude de la réactivité de la double liaison exocyclique	159
2.3.1	Essai d'époxydation	159
2.3.2	Essai de dihydroxylation	163
3.	Conclusion du chapitre 4	164
Chapitre 5	Vers la synthèse de xénicanes à partir du sweroside	167
1.	Les xénicanes	167
1.1	Introduction	167
1.1.1	Les différentes sources de xénicanes	169
1.1.2	Activités biologiques des xénicanes	171
1.1.2.a)	Activité anticancéreuse	171
1.1.2.b)	Activité antibactérienne	175
1.1.2.c)	Activité anti-inflammatoire	176
1.1.2.d)	Activité anti-biofilm	176
1.1.2.e)	Toxicité	177
1.1.3	Synthèse de xénicanes et de trans-cyclononène dans la littérature	177
1.1.3.a)	Synthèse de la dicétone d'Hajos-Parrish par fragmentation de Grob	178
1.1.3.b)	Synthèse par couplage croisé pallado-catalysé	179
1.1.3.c)	Synthèse par métathèse cyclisante	180
2.	Rétrosynthèses : des iridoïdes aux xénicanes de types xénicines : quelle stratégie à retenir ?	182
2.1.1	Rétrosynthèse générale et choix du sweroside comme produit de départ	182
2.1.2	Stratégie de cyclisation du méthylcyclononène	184
2.1.2.a)	Réflexion sur l'ordre d'addition des deux additions nucléophiles	184
2.1.2.b)	Stratégie d'addition nucléophile	184
2.1.2.c)	Stratégie d'Umpolung	186
2.1.2.d)	Stratégie métathèse	187
3.	Vers la synthèse de la tsitsixénicine A	189
3.1	Stratégie d'addition directe	189
3.1.1	Synthèse de l'aldéhyde clé	189
3.1.1.a)	Par coupure oxydante	189
3.1.1.b)	Par ozonolyse	190
3.1.2	Epimérisation	192

3.1.2.a)	Elimination en milieu aprotique.....	192
3.1.2.b)	Epimérisation en milieu protique.....	193
3.1.3	Addition nucléophile.....	193
3.1.3.a)	Synthèse du 2-chloro-5-iodo-2-pentène.....	193
3.1.3.b)	Essais d'addition d'organolithiens.....	194
3.1.3.c)	Essais d'addition d'organozincique-cuprates mixtes	195
3.1.3.d)	Essais d'addition d'organomagnésiens	197
3.2	Stratégie Umpolung	198
3.2.1	Synthèse des dithianes	198
3.2.1.a)	Synthèse de 1,2-dithianes 431 et 432	198
3.2.1.b)	Synthèse des 1,3-dithianes 433 et 434	199
3.2.2	Essais d'addition	200
3.2.3	Influence du sucre.....	201
3.2.4	Réflexion sur l'impossibilité de la déprotonation des dithianes 431, 433, 432, 434 et 437	201
4.	Etude de la réactivité 7-iodo-(2',3',4',6'-O-tétrapivaloyl)sécologanol	202
4.1.1	Ouverture par TMSI	202
4.1.2	Essai d'addition sur le C7	203
5.	Conclusion du chapitre 5	204
	Conclusion générale et perspectives	205
	Bibliographie	209

Liste des abréviations

$[\alpha]_D$: Pouvoir rotatoire	IBX : acide 2-iodobenzoïque
δ : Déplacement chimique	<i>i</i>-Pr₂NH : diisopropylamine
Δ : Chauffage à reflux	TMSOTf : Sulfonate de triméthylsilyltrifluorométhane
4-DMAP : 4-Diméthylaminopyridine	IR : Infra-Rouge
Å : Angström	J : Constante de couplage
Ac : Acétyle	K_d : Coefficient de partage
ACN : Acétonitrile	LDA : Lithium diisopropylamine
Ac₂O : Anhydride acétique	<i>m</i>-CPBA : Acide <i>mé</i> ta-chloroperbenzoïque
AcOEt : Acétate d'éthyle	Me : Méthyle
B_{AC}2 : catalyse basique pour le clivage O-ACyl bimoléculaire	MeOH : Méthanol
B_{AL}2 : catalyse basique pour le clivage O-ALkyl bimoléculaire	MPLC : Medium Pressure Liquid Chromatography
AcOH : Acide acétique	MS : Spectre de masse
BF₃. Et₂O : Ether éthylique de trifluorure de bore	<i>n</i>-BuLi : <i>n</i> -butyllithium
BOP-Cl : Bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphonic chloride	<i>n</i>-BuOH : <i>n</i> -butanol
CCM : Chromatographie sur couche mince	<i>n</i>-PrOH : <i>n</i> -propanol
C.L.V. : Chromatographie Liquide sous vide	NMI : 1-Méthylimidazole
CSA : Acide camphorsulfonique	NOE : <i>Nuclear Overhauser Effect</i>
COSY : <i>Corrélation spectroscopy</i>	NOESY : <i>Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy</i>
CPC : Chromatographie par Partition Centrifuge	Nu : Nucléophile
DABCO : 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane	OPLC : Overpressured-Layer Planar Chromatography
dba : dibenzylideneacetone	PCC : Chlorochromate de pyridium
DBAB : Dibenzyl Azodicarboxylate	PDC : Dichromate de pyridinium
DBU : 1,8-Diazobicyclo[5.4.0]undec-7-ène	P_f : Point de fusion
DCM : Dichlorométhane	Ph : Phényle
DiBAI-H : hydruure de diisobutylaluminium	PhMe : Toluène
DME : Diméthoxyéthane	Piv : Groupement ester pivalique
DMF : Diméthylformamide	PivCl : Chlorure de pivaloyle
DMSO : Diméthylsulfoxyde	PivOH : Acide pivaloïque
DMP : Dess-Martin Periodinane	PPh₃ : Triphénylphosphine
DPPF : 1,1-bis-diphénylphosphino-ferrocene	ppm : Parties par million
éq. : Equivalent	Pyr : Pyridine
ESI : Electrospray	Rha : Rhamnose
Et : Ethyle	Rf : Rapport frontal
Et₂O : éther diéthylique	RMN : Résonance magnétique nucléaire
EtOAc : Acétate d'éthyle	t.a. : Température ambiante
Et₃N : Triéthylamine	TBAF : Fluorure de tétrabutylammonium
EtOH : Ethanol	<i>t</i>-BuLi : <i>tert</i> -butyllithium
GABA : acide gamma-amino-butyrique	TBSCl : chlorure de <i>tert</i> -butylsilyle
Glc : Glucose	TBSOTf : Triflate de <i>tert</i> -butylsilyle
GP : Groupe Partant	Tf₂O : anhydride triflique
HMBC : Heteronuclear multiple bond correlation	THF : Tétrahydrofurane
HPMA : Hexaméthylphosphoramide	T.M. : Tamis Moléculaire
HPLC : High Performance Liquid Chromatography	TMEDA : Tétraméthyléthylènediamine
HSQC : Heteronuclear single quantum correlation	TMS : triméthylsilyle
HRMS : High resolution mass spectroscopy	TMSCHN₂ : Triméthylsilyldiazométhane
Hz : Hertz	TMSI : Iodure de triméthylsilyle

TMSOH : triméthylsilanol

TMSOK : Triméthylsilanolate de potassium

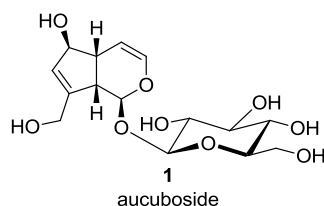
TMSONa : Triméthylsilanolate de sodium

TsCl : Chlorure de tosylate

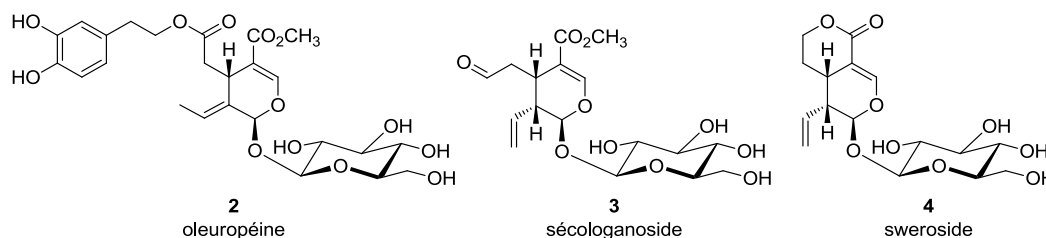
UV : Ultra-violet

Introduction générale

Depuis plusieurs années, un des axes de recherche du laboratoire de Pharmacognosie (UMR8638 CNRS, Université Paris Descartes) est la valorisation d'iridoïdes abondants et renouvelables comme synthons chiraux pour la synthèse de molécules biologiquement actives. Ces travaux réalisés sur la chimie de l'aucuboside (**1**) ont fait l'objet de plusieurs thèses et ont permis la mise au point de nouvelles méthodes de synthèses ainsi que l'obtention de nombreux synthons et de nouveaux squelettes bicycliques ou tricycliques chiraux. Ils ont permis la découverte de composés cytotoxiques, antibactériens et de nouveaux analogues contraints du GABA.



Dans le cadre de l'ANR-IRNACHIR, qui a pour but d'élargir la diversité chimique accessible à partir des iridoïdes en suivant les principes de la chimie verte, nous nous sommes intéressés à d'autres matières premières renouvelables et abondantes. Plus particulièrement, nous avons choisi d'étudier trois matières premières de types sécoiridoïdes : l'oleuropéine (**2**), le sécologanoside (**3**) et le sweroside (**4**).



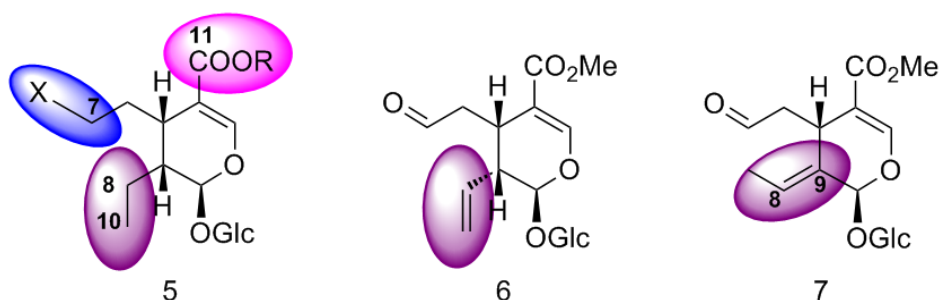
Mon projet de thèse consiste à développer la chimie de ces composés afin d'avoir accès à de nouveaux synthons chiraux utilisables en synthèse pour l'obtention d'une large variété de composés naturels ou non naturels bioactifs.

La conduite de ce projet s'est effectué à partir de plusieurs objectifs :

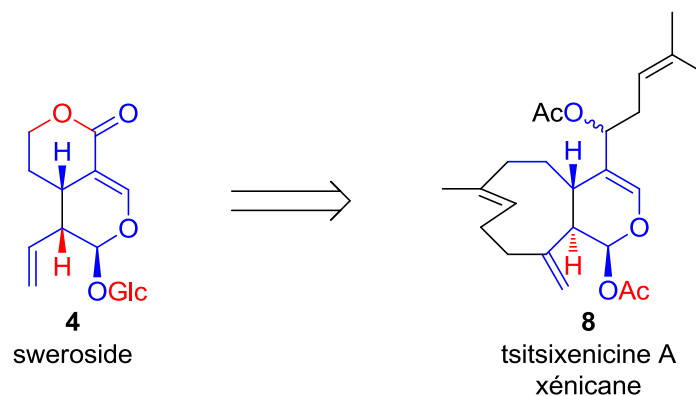
- Mise au point de procédés d'extractions et de purifications verts des trois matières premières sur de grandes quantités à partir des sources les plus abondantes. Selon le principe de réduction de la quantité de solvants, de produits toxiques et de la consommation d'énergie.
- Développement de nouvelles méthodes de synthèses applicables à la complexité chimique des sécoiridoïdes dans des conditions douces : température ambiante, pression atmosphérique, réactifs non toxiques et peu dangereux.
- Synthèse de chimiothèque de synthons de types sécoiridoïdes et de dérivés aldéhydiques fonctionnalisés à partir des matières premières extraites.

- Valorisation des matières premières et des synthons pour la synthèse de produits naturels bioactifs.

Ainsi, après une introduction sur les iridoïdes et leurs rôles dans la Nature et en synthèse chimique, nous verrons la mise au point des procédés verts d'extractions et de purifications des matières premières à partir de deux sources végétales cultivées dans le jardin de la Faculté de Pharmacie : l'olivier (*Olea europaea*) et le chèvrefeuille de Tartarie (*Lonicera tatarica*). Nous décrirons ensuite la mise au point d'une nouvelle méthode douce d'ouverture de lactone par le TMSNa et son application aux sécoiridoïdes dérivés du sweroside pour l'obtention de nouveaux synthons de type **5**. Cette méthode sera ensuite mise à profit pour la synthèse d'analogues fonctionnalisés du sécologanoside de type **6** à partir du sweroside (**4**) et pour l'obtention de nouveaux dérivés isomériques du sécologanoside de type **7** à partir de l'oleuropéine (**2**).



Enfin nous exploiterons différentes stratégies d'utilisation d'un synthon issu du sweroside pour aller vers la synthèse de composés marins bioactifs de types xénicanes comme la tsitsixénicine A (**8**).



Chapitre 1 Introduction

1. Les iridoïdes dans le règne végétal

1.1 Définition

Les iridoïdes *stricto sensu* sont des monoterpènes caractérisés par un squelette cyclopenta[*c*]pyrane, parfois désigné par le terme iridane. Le groupe des iridoïdes comporte actuellement près de 1700 composés identifiés à ce jour¹⁻⁶. Les représentants majoritaires de ce groupe sont les hétérosides d'iridoïdes.

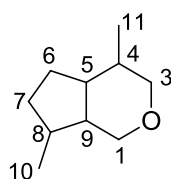


Schéma 1 : Structure du squelette iridane

Les iridoïdes doivent leurs noms aux fourmis *Iridomyrmex detectus* à partir desquelles ont été isolées des substances de défense propre à ces insectes en 1956⁷. Le premier iridoïde à être isolé est l'iridodial (**9**), un 1,5-dialdéhyde en équilibre avec la forme lactol **10**⁸, représentant la structure de base des iridoïdes.

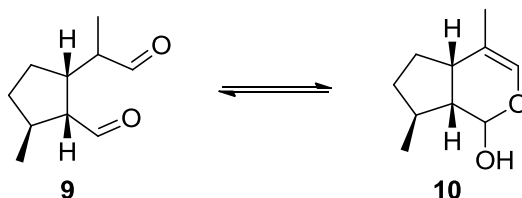


Schéma 2 : Structure de l'iridodial

Le nom « iridoïde » a été proposé par Briggs⁹ en 1963 et a été définitivement admis en 1969 par Bobbit et Segebarth¹⁰. Il est aussi admis que les sécoiridoïdes, issus de la rupture de la liaison 7-8 du noyau cyclopenténique appartiennent aussi à ce groupe¹¹. Par extension les iridoïdes simples (non hétérosidiques) et les bisiridoïdes peuvent aussi être désignés par le terme général iridoïde.

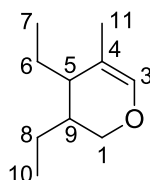


Schéma 3 : Structure du squelette sécoiridoïde

Bien qu'ils aient été premièrement isolés chez les fourmis, les iridoïdes sont rares chez les insectes mais sont particulièrement répandus dans le règne végétal. Ils sont présents uniquement dans les

dicotylédones en particulier chez les Asteridae¹ : Dipsacales, Gentianales, Lamiales, Plantaginales, Rubiales, Scrophulariales, ce qui en fait des marqueurs chimiotaxonomiques intéressants¹².

Plusieurs classifications des iridoïdes ont été proposées. Parmi celles-ci, A. Bianco⁵ divise les monoterpènes cyclopentaniques en deux catégories :

- Les composés iridoïques subdivisés en quatre groupes (glycosides d'iridoïdes, iridoïdes simples, sécoiridoïdes et bisiridoïdes).
- Les alcaloïdes monoterpéniques.

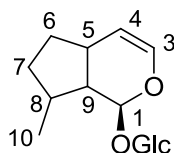
H. Franzyk considère trois catégories⁶ :

- Les hétérosides d'iridoïdes (regroupant les iridoïdes carbocycliques, les sécoiridoïdes et les bis-iridoïdes).
- Les iridoïdes simples.
- Les alcaloïdes monoterpéniques.

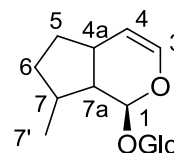
C'est suivant cette dernière classification que nous allons présenter quelques exemples d'iridoïdes.

1.2 Classification

Par convention, les structures de ces composés et leurs dérivés seront toujours représentés comme ci-dessous et dans le cas des hétérosides, le β -D-glucose sera remplacé par le symbole Glc. La numérotation utilisée dans cette thèse, sera la numérotation usuelle qui diffère de la numérotation IUPAC où le squelette carboné est numéroté suivant les règles de fusion de cycle.



Nomenclature usuelle :
 (1S)-1-(O- β -D-glucopyranosyl)-
 1,5,6,7,8,9-hexahydrocyclopentano[c]pyrane



Nomenclature IUPAC :
 (1S)-1-(O- β -D-glucopyranosyl)-
 1,4a,5,6,7,7a-hexahydrocyclopentano[c]pyrane

Schéma 4 : Nomenclature et numérotation des iridoïdes.

1.2.1 Hétérosides d'iridoïdes

Dans la majorité des hétérosides, le sucre est un glucose relié à la génine par une liaison osidique entre l'hydroxyle en C1 de la génine avec l'hydroxyle porté par le carbone anomérique du sucre. Plus rarement le sucre peut être un rhamnose (**11**¹³), un arabinose (jioglutoside (**12**)¹⁴) ou un oligosaccharide (rehmannioside (**13**)¹⁵).

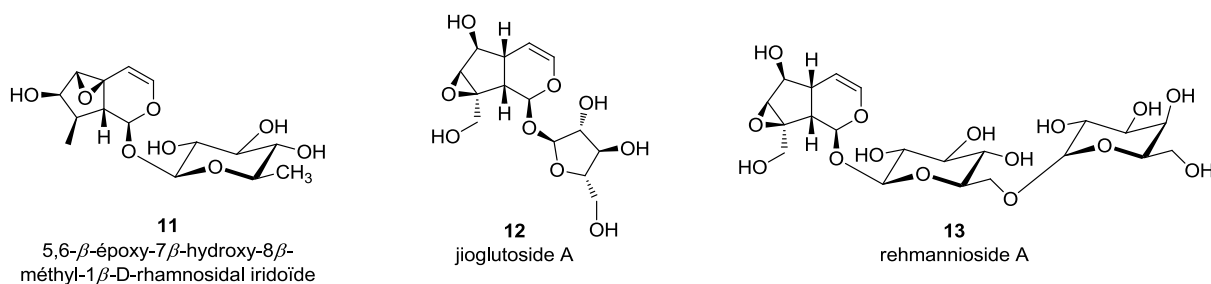


Schéma 5 : Exemples de différents sucres présent dans les hétérosides d'iridoïdes

1.2.1.a) Iridoïdes carbocycliques

Les iridoïdes possèdent généralement 10 atomes de carbone (loganine (**14**)^{16,17}, géniposide (**15**)¹⁸), parfois le cycle pyranique est ouvert (népétariaside (**16**)¹⁹).

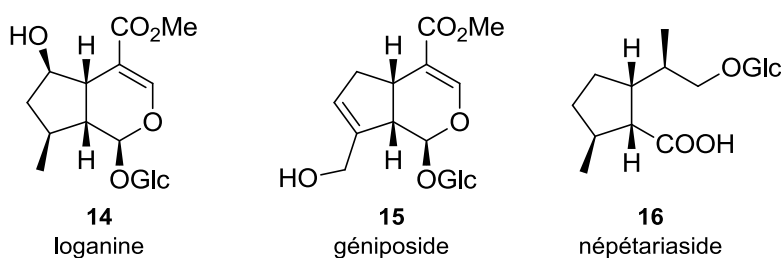


Schéma 6 : Exemples d'iridoïdes en C10

Il existe aussi des composés à 9 carbones. Dans ces composés, les carbones C10 (par exemple : aucuboside (**1**), catalpol (**17**), harpagoside (**18**) ou C11 (par exemple : mentzefoliol (**19**), randioside(**20**)) sont présents.

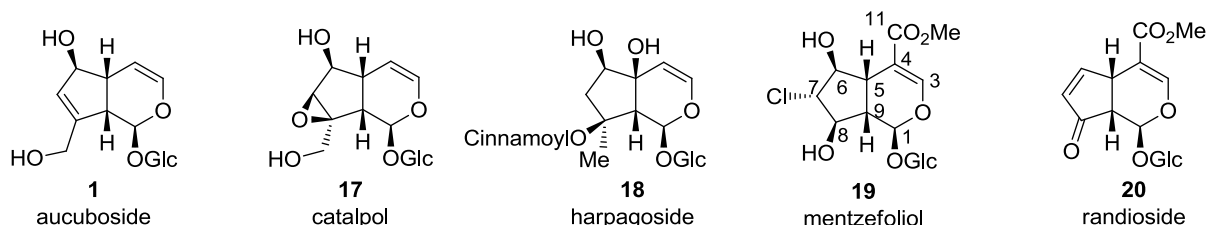


Schéma 7 : Exemples d'iridoïdes en C9

Les composés en C8 sont plus rares et ne possèdent pas les carbones C10 et C11 (unédoside (**21**), thunbergioside (**22**)).

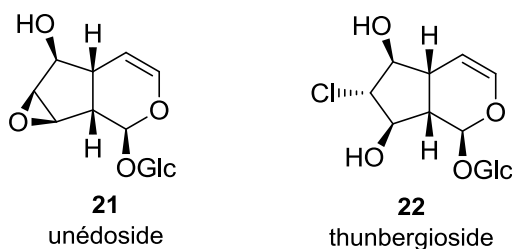


Schéma 8 : Exemples d'iridoïdes en C8

1.2.1.b) Sécoiridoïdes

Les sécoiridoïdes dérivent biogénétiquement des iridoïdes par ouverture oxydante de la liaison C7-C8 de la génine. De ce fait, ils appartiennent à la famille des iridoïdes. Les différentes génines se caractérisent par certaines fonctionnalités :

- Présence d'un groupe vinyle en C9 sous forme lactone (sweroside (**4**)²⁰, gentiopicroside (**23**)²¹) ou ouverte (sécologanoside (**3**)^{22,23}) :

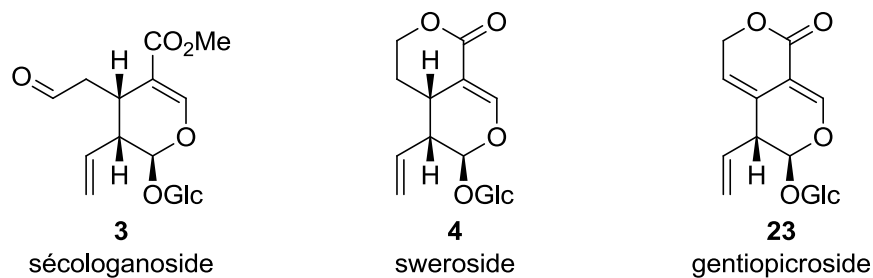


Schéma 9 : Exemples de sécoiridoïdes possédant une chaîne latérale vinylique

- Présence d'un groupement éthylidène (oléoside (**24**)²⁴) ou hydroxyéthylidène (10-hydroxyoléoside-11-méthylester (**25**)²⁵) en C9. Présence d'un acide carboxylique estérifié (oleuropéine (**2**)²⁶) ou non.

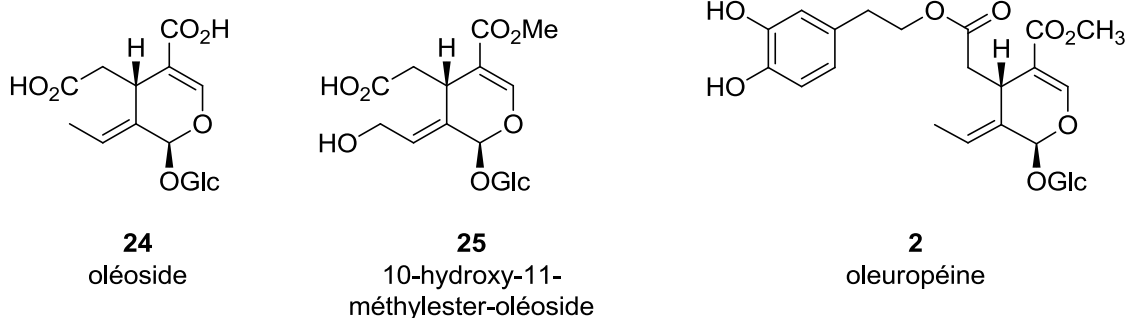


Schéma 10 : Exemples de sécoiridoïdes avec un groupement éthylidène ou hydroxyéthylidène en C9

- Présence d'une structure tricyclique : par refermeture en C8 *via* une liaison C-O, comme pour le sécogalioside (**26**)²⁷ :

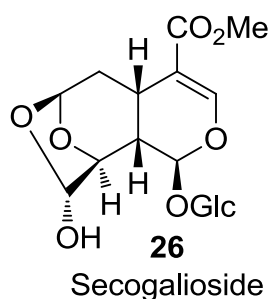


Schéma 11 : Structure du sécogalioside (**26**)

1.2.1.c) Bis-iridoïdes

Les bis-iridoïdes ou iridoïdes dimériques sont formés de deux composés iridoïques (ou sécoiridoïques) reliés par au moins une liaison (généralement une liaison ester). Les deux squelettes iridoïdes peuvent être liés directement entre eux (sylvestroside I (**27**)²⁸) ou *via* un squelette intermédiaire (coelobillardin (**28**)²⁹).

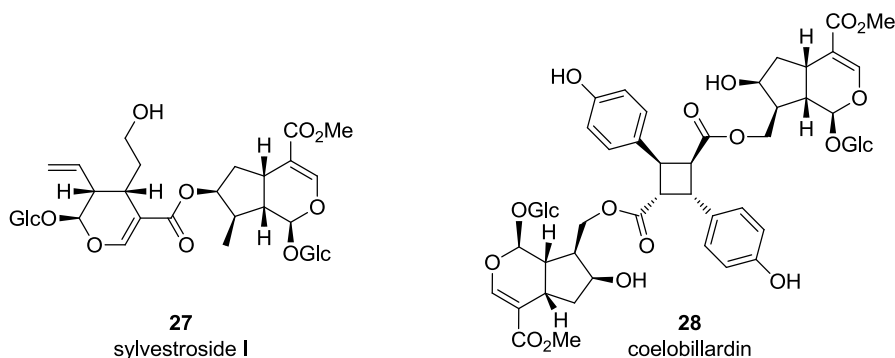


Schéma 12 : Exemples de bisiridoïdes

1.2.2 Iridoïdes simples

Les iridoïdes simples se différencient des hétérosides d'iridoïdes par l'absence de l'unité glucosidique en C1. Ils sont souvent appelés aglycones d'iridoïdes ou génines d'iridoïdes. Selon Béal, ils peuvent être classés en quatre sous-groupes³⁰ :

- Type pluméria (pluméricine (**29**), allamandine (**30**) : possédant le squelette de la pluméricine (**29**)^{31,32} avec un cycle spiro en C8 :

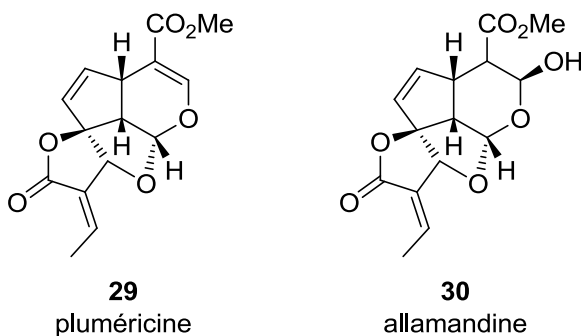


Schéma 13 : Iridoïdes de type Pluméria

- Type valeriana (valtrate (**31**), patrinoside (**32**)) : possédant une structure comparable au valtrate (**31**)^{33,34} :

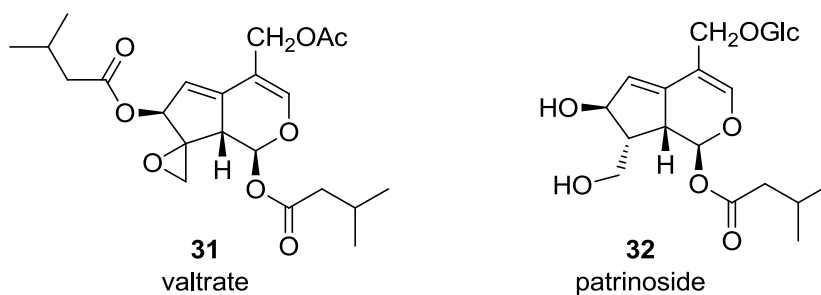


Schéma 14 : Iridoïdes de types valériana

- Type iridiol (mentztriol (**33**), eucommiol (**34**), gelsemiol (**35**)) : caractérisé par l'absence du cycle dihydropyrane³⁵⁻³⁷ :

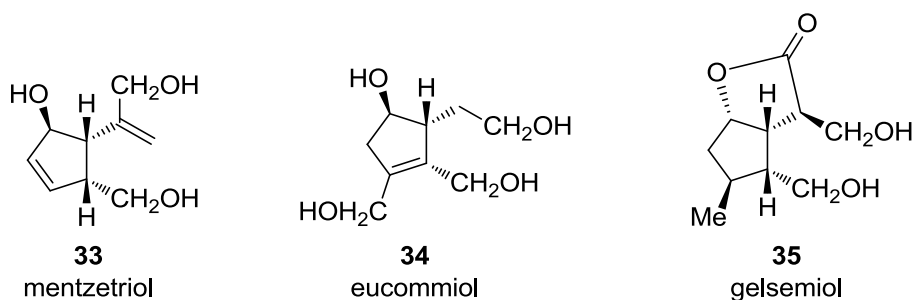


Schéma 15 : Iridoïdes du type iridiol

- Types divers : regroupant les autres iridoïdes non glucosylés³⁸⁻⁴⁰ : spécionine (**36**), cistachlorine (**37**), noviburtinal (**38**).

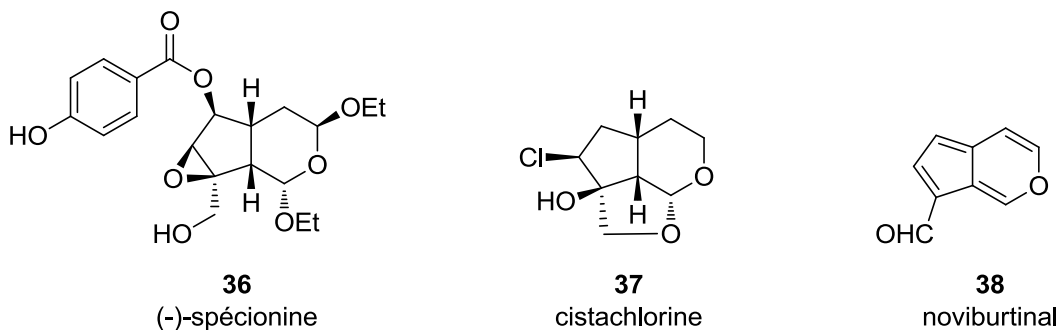


Schéma 16 : Iridoïdes simples divers

1.2.3 Alcaloïdes monoterpéniques

Peu d'iridoïdes alcaloïdiques naturels sont décrits, de plus il s'agit souvent d'artéfacts d'extraction réalisées en présence d'ammoniaque. Il existe quatre types de d'alcaloïdes monoterpéniques :

- Les alcaloïdes monoterpéniques dérivés de pyridine^{41,42} : (-)-actinidine (**39**), (+)-rhéxifoline (**40**).

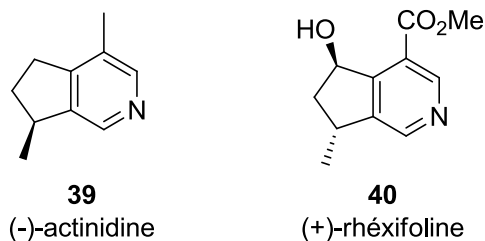


Schéma 17 : Exemples d'alcaloïdes monoterpéniques dérivés de pyridine

- Les alcaloïdes monoterpéniques dérivés de pipéridine^{43,44} : (+)-skythanthine (**41**), incarvilline (**42**).

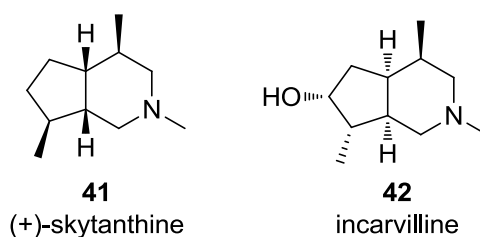


Schéma 18 : Exemples d'alcaloïdes monoterpéniques dérivés de pipéridine

- Les alcaloïdes monoterpéniques glycosidiques comme le bakankoside (**43**)⁴⁵ :

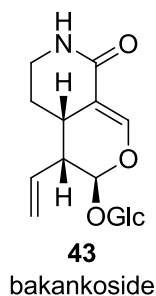


Schéma 19 : Le bakankoside (**43**) : iridoïde azoté naturel

- Les alcaloïdes monoterpéniques indoliques comme la strictosidine (**44**) et le strictosamide (**45**) qui proviennent du sécologanoside (**3**) et du tryptophane⁴⁶ :

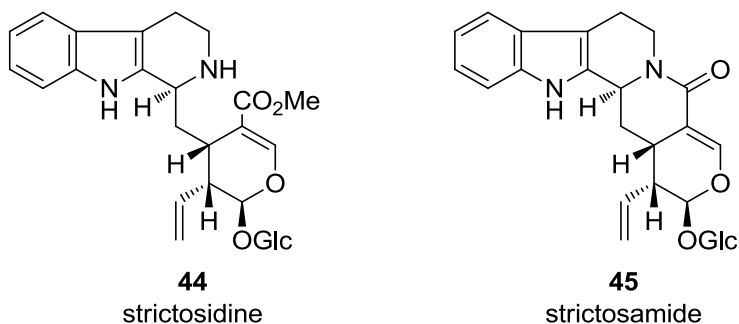


Schéma 20 : Exemples d'alcaloïdes monoterpéniques indoliques

Les alcaloïdes indolo-monoterpéniques représente la classe la plus importante. Nous détaillerons les caractéristiques de ces composés dans le Chapitre 13.1.1.

1.3 Origine biosynthétique

L'étude de la biosynthèse des iridoïdes a fait l'objet de nombreux travaux grâce au rôle que joue le sécologanoside (**3**) dans la biosynthèse des alcaloïdes indolo-monoterpéniques⁴⁷⁻⁵². Dans ces métabolites, le caractère terpénique des iridoïdes ou des alcaloïdes indoliques a pu être montré par l'incorporation d'acide mévalonique (MVA) et de géraniol marqués. Le précurseur commun, le Géranyl PyroPhosphate (GPP) (**46**) est converti en 10-hydroxygéraniol (**47**) puis après oxydation, en 10-oxogéraniol (**48**). La fermeture du cyclopentane conduit à l'iridodial (**9-10**) qui est oxydé en iridotrial **49-50**. Ce trialdéhyde est ensuite transformé en loganine ou loganoside (**14**). L'ouverture oxydante de la liaison C7-C8 mène au sécologanoside (**3**). Bien que différentes voies aient été envisagées pour cette dernière transformation, aucun mécanisme n'a pu être prouvé et jusqu'à présent, aucune enzyme n'a pas pu être isolée.

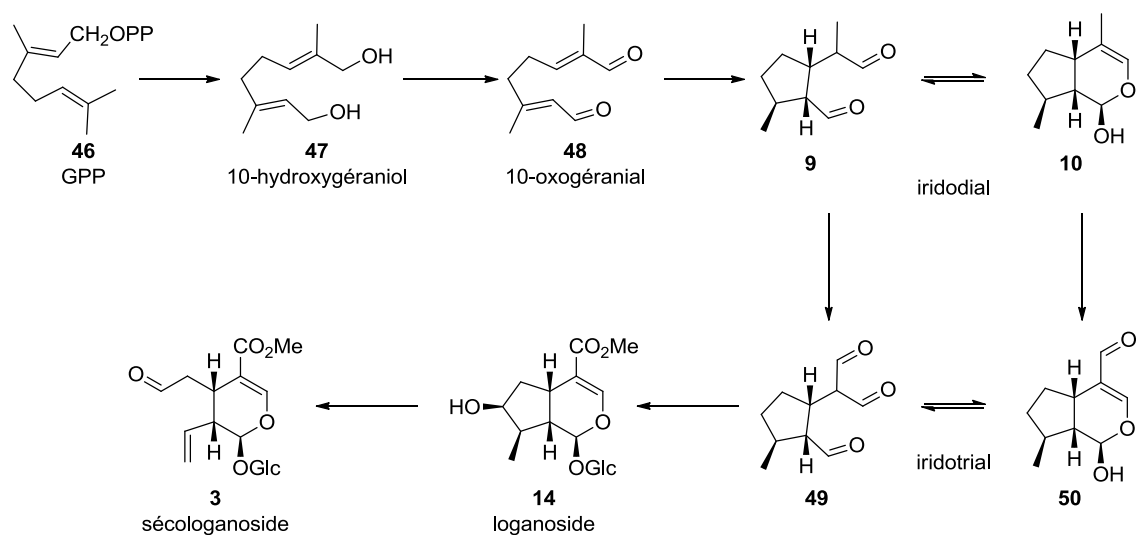
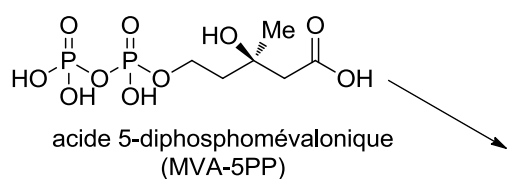
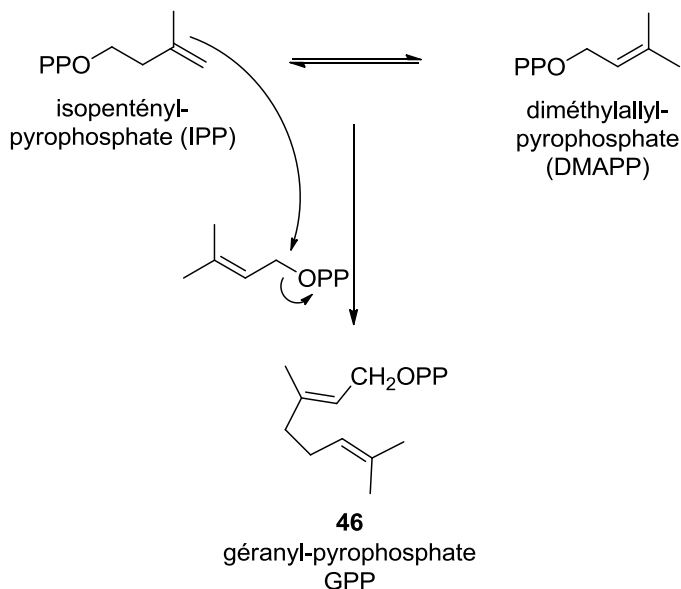
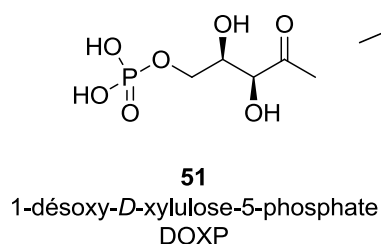
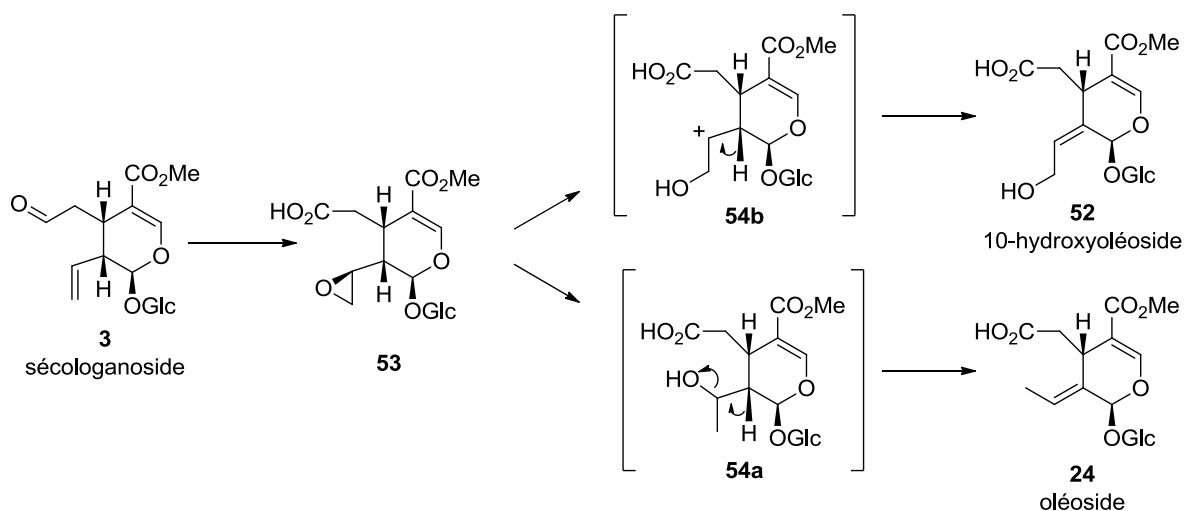


Schéma 21 : Biosynthèse du sécologanoside (**3**)

Il est à noter que la formation du GPP (**46**) ne vient pas entièrement de la voie du mévalonate. En effet des études plus récentes⁵³, utilisant du 1-désoxy-D-xylulose-5-phosphate (DOXP) (**51**) marqué, ont montré qu'il était majoritairement incorporé dans le sécologanoside (**3**). Ces résultats ont permis d'établir que la voie du méthylérythritol phosphate (MEP/DOXP ou voie non-mévalonique) est privilégiée par rapport à la voie du mévalonate.

Voie du mévalonate :Voie du méthylérythritol phosphate :Schéma 22 : Les deux voies de biosynthèse du GPP (**46**)

En ce qui concerne la formation des composés de type oléosidique (**24** et **52**), Inouye *et al.*^{54,55} ont montré qu'ils sont formés à partir du sécologanoside (**3**) *via* un intermédiaire époxydé **53** au niveau des atomes C8-C10. Après ouverture de l'époxyde, l'élimination d'un proton de **54a** ou de **54b** conduit à la formation des composés de type oléoside (**24**) ou 10-hydroxyoléoside (**52**).

Schéma 23 : Biosynthèse des sécoiridoïdes de type oléoside **53** et 10-hydroxyoléoside **52** à partir du sécologanoside **3**

2. Propriétés biologiques et pharmacologiques

2.1 Rôle des iridoïdes dans l'écologie végétale

Les iridoïdes en général, sont des substances qui jouent un rôle majeur dans les relations hôte-prédateur entre les végétaux producteurs d'iridoïdes et les insectes herbivores mais aussi entre les insectes et leurs prédateurs (oiseaux, araignées ...) ⁵⁶⁻⁵⁸.

Par exemple, l'aucuboside (**1**) intervient dans la spécialisation des insectes herbivores pour certaines espèces de plantes appelées plantes-hôtes. Dans certains cas, la plante le sécrète comme substance toxique ou dissuasive (amertume de l'aucuboside) pour se protéger contre les insectes phytophages (des larves de papillons) ⁵⁹. Dans d'autres cas, il stimule l'appétit et l'oviposition de certaines espèces de papillons.

Il existe aussi des espèces d'herbivores capables de séquestrer les glucosides d'iridoïdes (GI) comme le catalpol (**17**) ou l'aucuboside (**1**), pour s'en servir comme agents défensifs contre leurs prédateurs. Par exemple, les chenilles *Junonia coenia* (Nymphalidae) séquestrent jusqu'à 25 % de leur masse sèche en aucuboside (**1**) et catalpol (**17**) lorsqu'elles sont élevées sur *Plantago lanceolata* (une espèce contenant 10 à 12 % de la masse sèche en GI totaux ⁶⁰) alors qu'elles ne contiennent que 4% de leur masse en aucuboside (**1**) lorsqu'elles sont élevées sur une espèce de *Plantago* contenant une faible quantité d'iridoïdes ⁶⁰ (*P. major*, 0,12 % de la masse sèche en GI totaux ⁶¹). Lorsque ces deux lots de chenilles sont les proies des araignées *Lycosa carolinensis*, deux fois moins de chenilles ayant séquestré la plus grande quantité de GI sont mangées ⁶⁰. Plus récemment, il a été montré que de faibles concentrations de GI pouvaient avoir un effet anti-appétant. Par exemple, les larves d'altises *Longitarsus melanocephalus*, hôtes de *Plantago lanceolata* et qui contiennent 0,67 % de leur masse sèche en GI, montrent un effet dissuasif sur les fourmis *Myrmica rubra*.

Ainsi les iridoïdes jouent un rôle important dans les interactions entre le monde végétal et animal.

2.2 Propriétés pharmacologiques

Les iridoïdes sont fréquemment présents dans les feuilles de plantes utilisées en phytothérapie et en médecine traditionnelles pour leurs propriétés de toniques amers, antipyrétiques, antitussives, hypotensives et dans le traitement de diverses affections et plaies cutanées.

Certaines plantes à iridoïdes sont inscrites à la pharmacopée européenne comme :

- L'harpagophyton (*Harpagophytum procumbens*, Pedaliaceae). Les racines sèches utilisées pour le traitement symptomatique des manifestations articulaires mineures, peuvent contenir jusqu'à 2 % d'harpagoside (**18**).
- La gentiane (*Gentiana lutea*, Gentianaceae), dont les racines sèches sont utilisées comme stimulant de l'appétit. Elles peuvent contenir jusqu'à 9 % de gentiopicroside (**23**).

- L'olivier (*Olea europaea*, Oleaceae), dont les feuilles sèches ont des propriétés hypotensives, hypoglycémiantes et diurétiques. Elles peuvent contenir jusqu'à 9 % d'oleuropéine (2).

A partir des usages traditionnels des plantes à iridoïdes, de nombreux travaux se sont intéressés aux activités biologiques et pharmacologiques d'iridoïdes et de sécoiridoïdes. Ces travaux ont montré que ces composés possèdent de multiples activités biologiques et plusieurs revues^{3,62,63} font état d'activités pharmacologiques de type anti-allergique, hypotensif, anti-hépatotoxique, cholérétique, hypoglycémiant, purgatif, anti-inflammatoire, antipasmodique, antitumoral, antiviral et antibiotique. Malgré toutes ces activités aucun médicament contenant d'iridoïdes ou basé sur le squelette iridoïde n'est sur le marché. En effet nombreuses sont les activités mais très faible est la spécificité de ces monoterpènes.

C'est pourquoi ces composés sont peu intéressants d'un point de vue pharmacologique, mais nous verrons qu'ils peuvent être utilisés comme matière première chirale pour la conception de molécules bioactives que ce soit par la nature ou en synthèse.

3. Les sécoirioïdes comme matière première chirale naturelle

Parmi les différents iridoïdes dont nous avons pu voir les structures, le sécologanoside (3) occupe une place particulière. En effet, le sécologanoside (3) est un précurseur de plus de 2500 alcaloïdes indolo-monoterpéniques, quinolines et isoquinolines naturelles. Ces alcaloïdes présentent de nombreux intérêts biologiques (nombreuses activités pharmacologiques, écologie chimique) et chimiques (étude de la biosynthèse, synthèse totale), c'est pourquoi ils ont été très largement étudiés. Ainsi le mot clé « secologanin » dans la base de données SCI-Finder donne plus de 1600 résultats. Depuis 1970, plus de 800 études ont été publiées, et depuis 1990 le nombre de publications par an croît chaque année. Ces résultats montrent que le sécologanoside (3) est une molécule importante dans « l'espace chimique naturel » et qu'il constitue une matière première indispensable pour l'accès à l'énorme diversité chimique des alcaloïdes indolo-monoterpéniques. Dans cette partie, nous verrons donc quelques exemples d'alcaloïdes d'intérêts biologiques et leurs biosynthèses à partir du sécologanoside (3).

3.1.1 Alcaloïdes indolo-monoterpéniques

La distribution de ce large groupe d'alcaloïdes est limitée à trois familles des Gentianales : Apocynaceae, Loganiaceae et Rubiaceae. La plupart de ces composés ont pour précurseur commun la strictosidine (44) et sont dérivés de la tryptamine (55) qui est issue du tryptophane.

La strictosidine (44), qui possède une configuration 3*S*, est issue du couplage entre la tryptamine (55) et le sécologanoside (3) catalysé par la Strictosidine Synthase (STR). Des expériences *in-vitro* avec de la STR isolée de *Cataranthus roseus*, ont montré que la chimiosélectivité et la stéréosélectivité de

cette réaction sont complètes. Cependant, le vincoside (**56**), dont la configuration est 3*R*, a aussi été isolé de cette plante. Jusqu'à présent aucune étude n'a permis d'élucider la formation du vincoside⁶⁴.

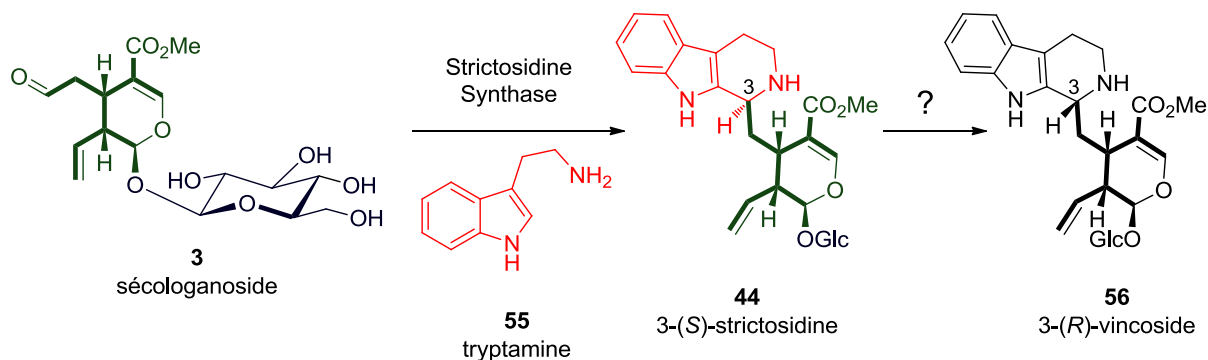


Schéma 24 : Biosynthèse de la strictosidine (**44**) et structure du vincoside (**56**).

Les multiples réarrangements que peut subir l'unité sécologanoside de la strictosidine expliquent la large diversité chimique des alcaloïdes indolo-monoterpéniques. Il existe trois groupes d'alcaloïdes indoliques qui sont classés par origine biosynthétique :

- Type I : les corynanthéanes (**1a**) et les strychnanes (**1b**) dans lesquels le squelette de l'unité monoterpénique du sécologanoside n'est pas réarrangée.
- Type II : les aspidomermanes dont l'unité monoterpénique est réarrangée par coupure des liaisons C2-C3 et C15-C16 puis par refermeture de la liaison C17-C20.
- Type III : les iboganes dont l'unité monoterpénique est aussi réarrangée par coupure des liaisons C2-C3 et C15-C16, mais dont la refermeture a lieu en C17-C14.

Les yohimbanes (yohimbine (**57**)) et hétéro-yohimbanes (cathénamine (**58**), ajmalicine (**59**)) ont pour précurseur commun l'aldéhyde 4,21-déhydrocorynanthéine (**60**). Les strychnanes (strychnine (**61**)), les aspidopermanes (aspidospermine (**62**)) et les iboganes (ibogaïne (**63**)) ont pour précurseur commun la préakuummicine (**64**).

Il existe aussi des alcaloïdes de type quinoléique (alcaloïdes des quinquinas, quinine (**65**)) qui dérivent aussi de la strictosidine (**44**) *via* le corynanthéal (**66**), par expansion du pyrrole de l'indole. Enfin les alcaloïdes de type camptothécine (**67**) sont aussi dérivés de la strictosidine (**44**), le passage indole – quinoléine pourrait faire intervenir le cétolactame macrocyclique à 10 atomes **68** et le pumiloside (**69**).
Le

Schéma 25 montre l'origine biosynthétique très simplifiée des différents alcaloïdes indolo-monoterpéniques à partir de la strictosidine (**44**).

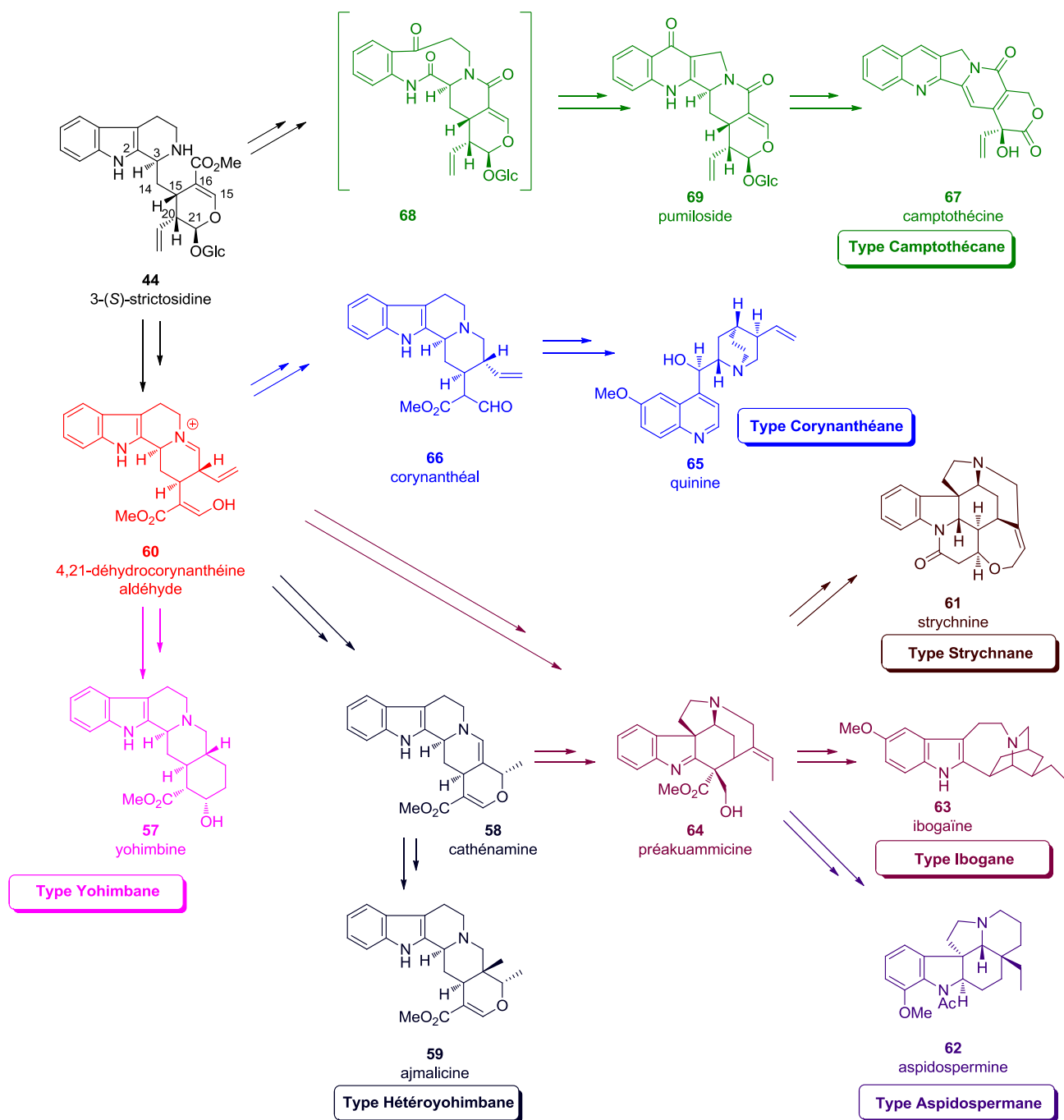


Schéma 25 : Schéma biogénétique simplifié des principaux types d'alcaloïdes indolo-monoterpéniques

3.1.2 Alcaloïdes isoquinoléino-monoterpéniques

Les alcaloïdes isoquinoléino-monoterpéniques sont beaucoup plus rares que les alcaloïdes indoliques¹. Ils sont essentiellement présents chez les *Cephaelis* dont le représentant le plus connu est le *Cephaelis ipecacuanha* (ou communément ipéca) autrefois utilisé comme vomitif. Ces alcaloïdes sont issus de la condensation du sécologanoside (**3**) sur la dopamine (**70**) pour former le déacétylipécocide (**71**). L'hydrolyse de l'isomère 3 α conduit à une génine instable **72** dont l'aldéhyde cyclise avec l'amine secondaire pour former la protoémétine (**73**). La molécule est ensuite décarboxylée et la condensation du second aldéhyde avec une deuxième molécule de dopamine (**70**) conduit à la formation de l'émétine (**74**), principe actif des ipécas.

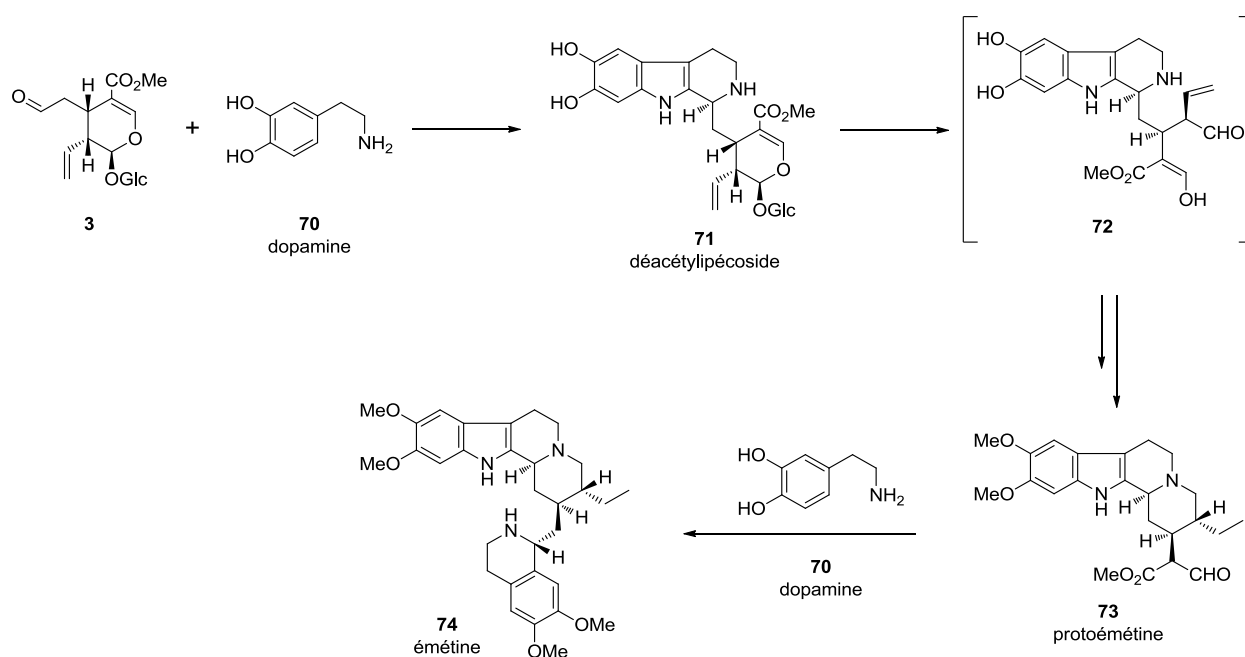


Schéma 26 : Schéma de biosynthèse de l'émétine

4. Iridoïdes : matières premières chirales en synthèse chimique

Dans cette partie, nous allons voir les différentes utilisations des iridoïdes comme matières premières chirales en synthèse organique. De nombreux travaux concernant l'utilisation de l'aucuboside (**1**) comme matière première ont été réalisés au laboratoire, par souci de concision, nous ne traiterons pas ces études et nous nous limiterons aux sécoiridoïdes qui nous intéressent dans le cadre de cette thèse : sécologanoside (**3**), sweroside (**4**) et oleuropéine (**2**).

4.1 Le sécologanoside : matière première d'hémisynthèse

4.1.1 Synthèse d'alcaloïdes indolo-monoterpéniques à partir du sécologanoside

Depuis l'élucidation de la biogénèse des alcaloïdes indolo-monoterpéniques, de nombreuses synthèses biomimétiques à partir du sécologanoside (**3**) ont été décrites. Les produits de départ utilisés peuvent être le sécologanoside libre ou protégé, ou ses aglycones. Nous verrons quelques exemples de synthèses biomimétiques des différents types d'alcaloïdes indolo-monoterpéniques. Ces exemples ont été choisis afin de mieux comprendre la versatilité du sécologanoside (**3**) comme synthon.

4.1.1.a) Synthèse de yohimbanes

L'équipe de Brown a effectué la synthèse de plusieurs dérivés de la yohimbine (**57**). Leur première synthèse concerne la formation de quatre yohimbanes à partir du sécologanoside (**3**)⁶⁵ : l'acétate de β -yohimbine (**75**), l'acétate de 19,20-déhydro de β -yohimbine (**76**), l'acétate de yohimbine (**77**) et l'acétate de 19,20-déhydroyohimbine (**78**). Le ratio entre les composés β -yohimbine et yohimbine est de 3 / 1. Le composé clé pour la condensation avec la tryptamine est l'aglycone **79** obtenu par hydrolyse enzymatique du 7-méthylester-sécologanoside (**80**) par la β -glucosidase à pH = 7. Le composé **79**, est obtenu en mélange *R* / *S* : 3 / 1. Il est ensuite converti en yohimbanes après acétylation, amination réductrice avec la tryptamine (**55**), cyclisation de Bischler-Napieralski par POCl₃ et réduction.

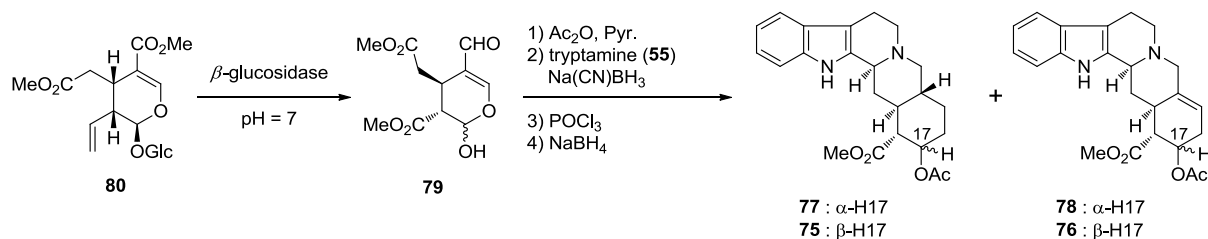


Schéma 27 : Synthèse non sélective de Yohimbanes à partir du sécologanoside **3**

L'inconvénient de cette synthèse est qu'il n'y a aucune sélectivité pour la formation d'un seul composé. Ce problème a été résolu en utilisant l'aglycone **81** qui est formé stéréosélectivement par l'action de la β -glucosidase à pH = 7 à 37°C pendant 4 jours sur le sécologanoside éthylène acétal

(**82**)⁶⁶. L'amination réductrice avec la tryptamine (**55**), suivie de la déprotection de l'acétal et de la cyclisation de Pictet-Spengler en conditions acides conduit à la 3-*iso*-19,20-déhydroyohimbine (**83**).

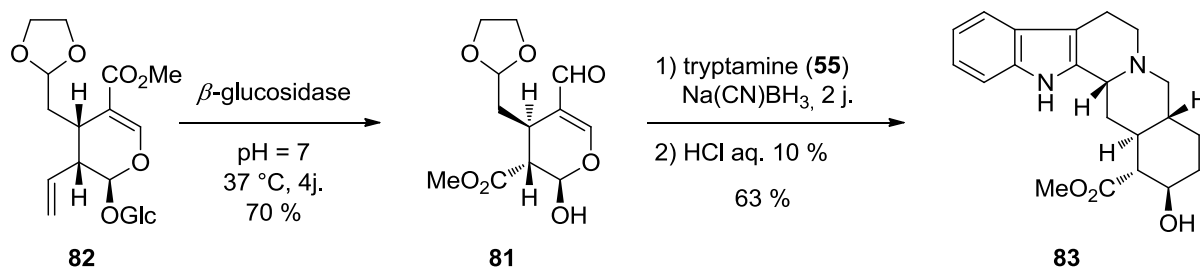


Schéma 28 : Synthèse de la 3-*iso*-19,20-déhydroyohimbine **83** à partir de **82**

L'hydrogénation de **83** sur PtO₂ permet la formation de la β -yohimbine (**84**), tandis qu'en présence de palladium sur charbon, c'est la pseudo- β -yohimbine (**85**) qui est obtenue. L'alcool de ce composé **85** peut alors être oxydé et sélectivement réduit par NaBH₄ pour donner la pseudo-yohimbine (**86**) qui peut être épimérisée en yohimbine (**57**) par chauffage dans l'acide acétique pendant 2 à 3 jours. Cette stratégie permet d'obtenir sélectivement quatre stéréoisomères de la yohimbine à partir du sécologanoside (**3**).

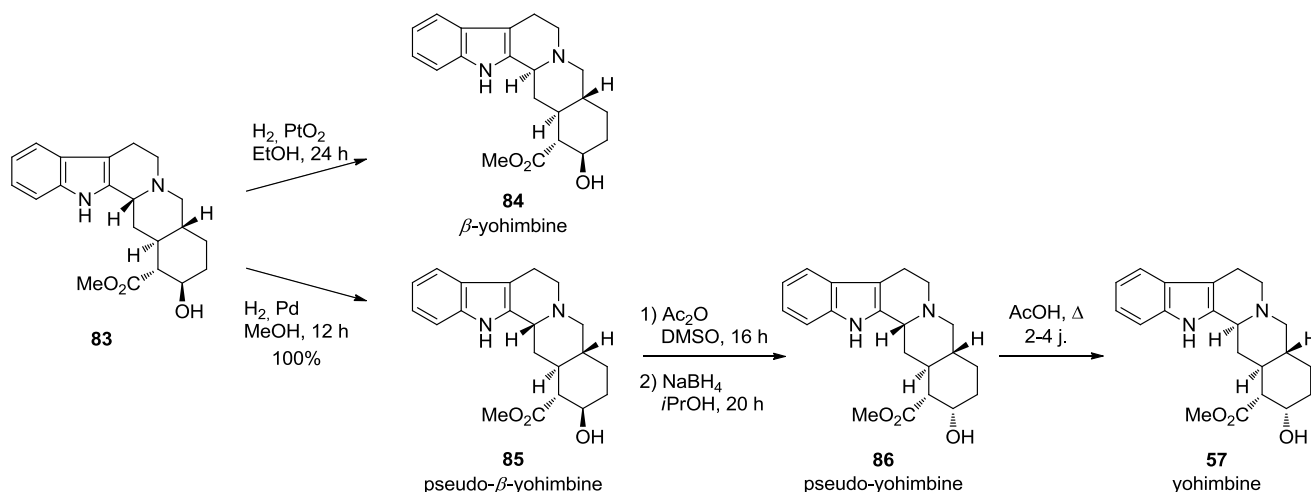


Schéma 29 : Synthèse sélective de yohimbanes à partir de **83**

4.1.1.b) Synthèse d'hétéro-yohimbanes

La synthèse d'hétéro-yohimbane a aussi été étudiée par l'équipe de Brown^{67,68}. Ils ont montré que l'hydrolyse enzymatique du sécologanoside (**3**) et l'amination réductrice avec la tryptamine (**55**) peut être réalisée « one-pot ». L'influence du pH est important, en effet lorsque la réaction est effectuée à pH = 5, les auteurs isolent comme composé majoritaire la 2,3-sécoakuummigine (**87**) avec un rendement de 30 %. Aucun dérivé pentacyclique n'a été isolé car la cyclisation en strictosidine (**44**) est plus lente que la réduction par l'hydruure de bore.

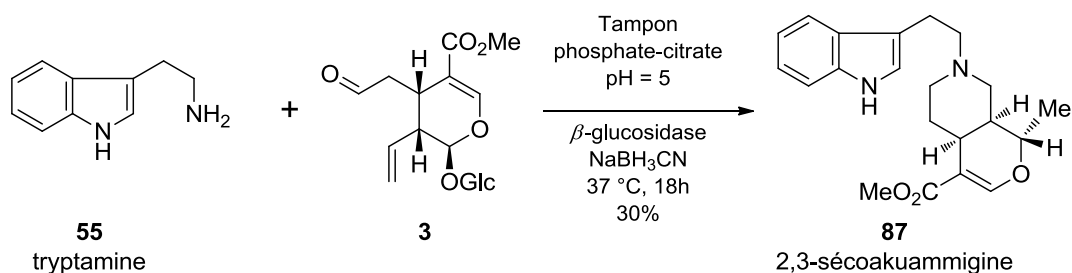


Schéma 30 : Synthèse de la 2,3-sécoakuammigine (87)

Pour obtenir les dérivés pentacycliques, le sécologanoside (3) est condensé avec la tryptamine (55) à pH = 4 pendant 48 heures, puis le pH est ajusté à 5 et la β -glucosidase et le $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_3$ sont ajoutés. Après 18 heures à 37°C, les auteurs isolent environ 70 % d'alcaloïdes. La séparation de ces composés a permis l'isolement de la 2,3-sécoakuammigine (87) (30 %), de l'akuammigine (88) (30 %), de la tétrahydroalstonine (89) (10 %) et de traces d'ajmalicine (59).

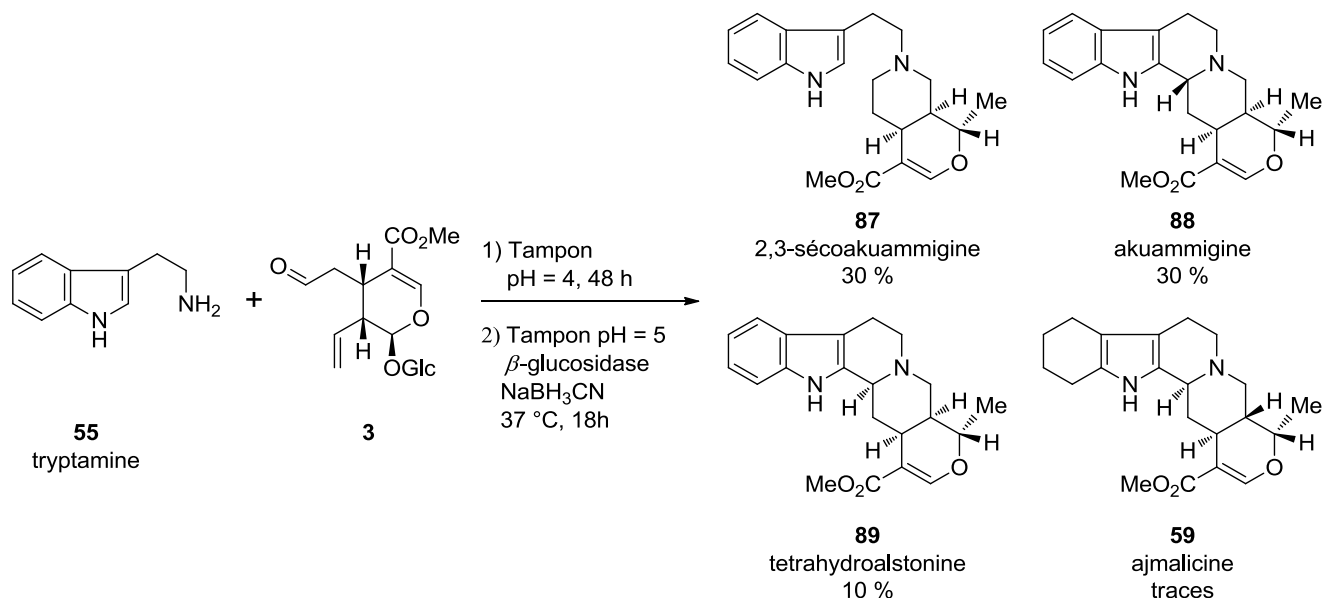
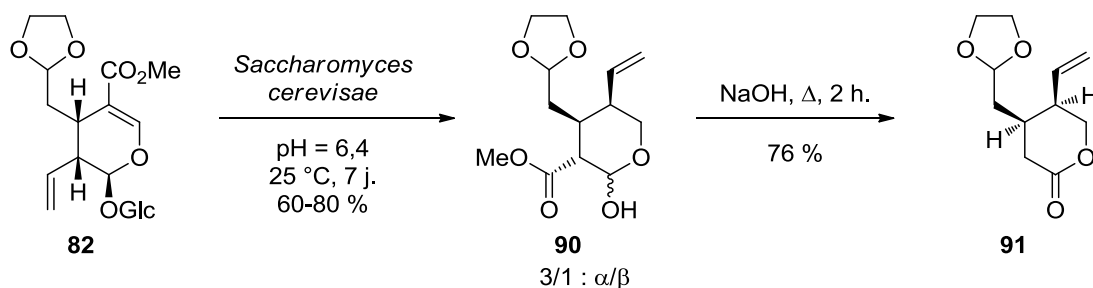


Schéma 31 : Synthèse non sélective d'hétéroyohimbanes à partir du sécologanoside (3)

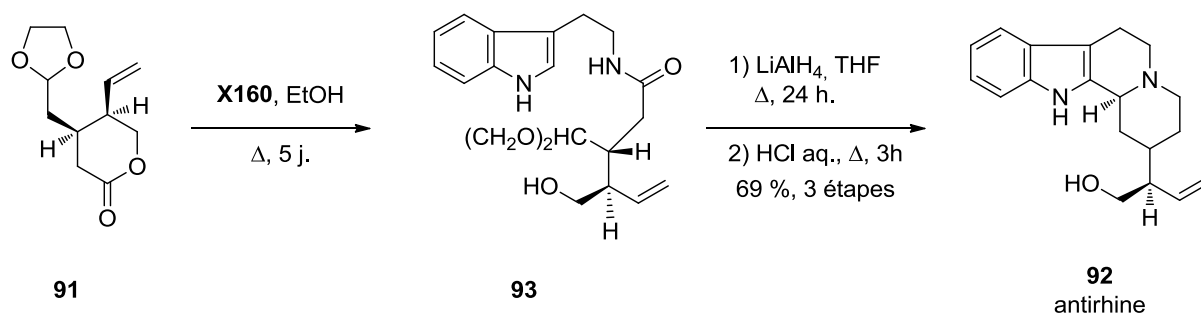
Jusqu'à présent aucune synthèse sélective d'hétéroyohimbanes à partir du sécologanoside (3) n'a été décrite.

4.1.1.c) Synthèse de l'antirhine

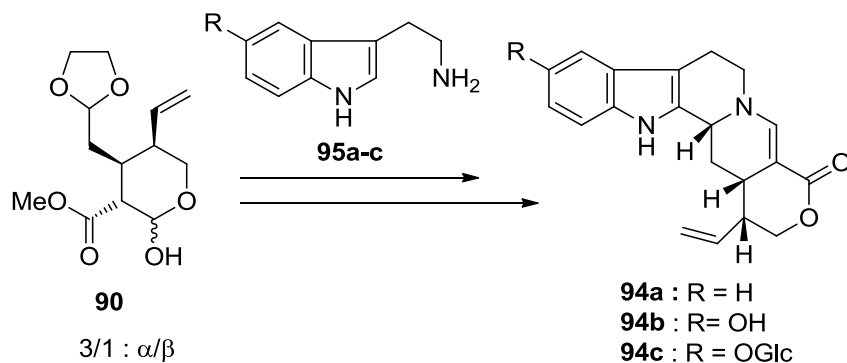
L'action de la levure de boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*) pendant 7 jours à pH 6,4 et 25 °C sur le sécologanoside éthylène acétal (82) conduit à la formation de l'aglycone 90 avec un rendement entre 60 et 80 %. Le synthon chiral clé 91 pour la synthèse de l'antirhine (92) est ensuite obtenu après saponification et déformylation par NaOH.



Le couplage de **91** avec la tryptamine (**55**) dans l'éthanol au reflux fournit l'amide **93**, qui est ensuite converti en antirhine (**92**) après réduction, déacétalisation acide et cyclisation de Pictet-Spengler⁶⁹.

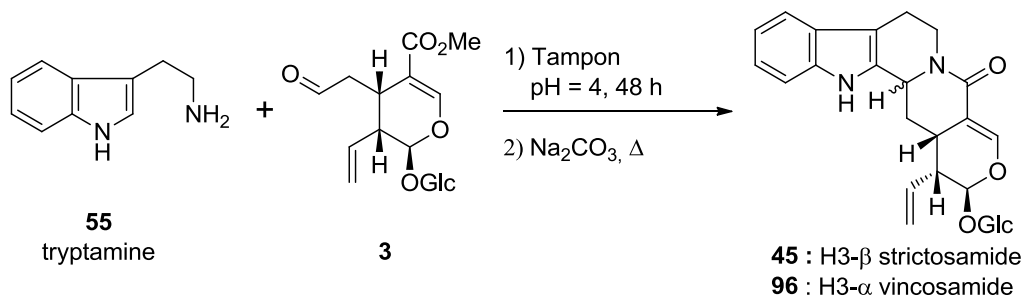


Le synthon **90** a aussi été utilisé pour réaliser la synthèse de dérivés de l'antirhine de type **94a-c**⁷⁰ à partir de dérivés de la tryptamine (**95a-b**).

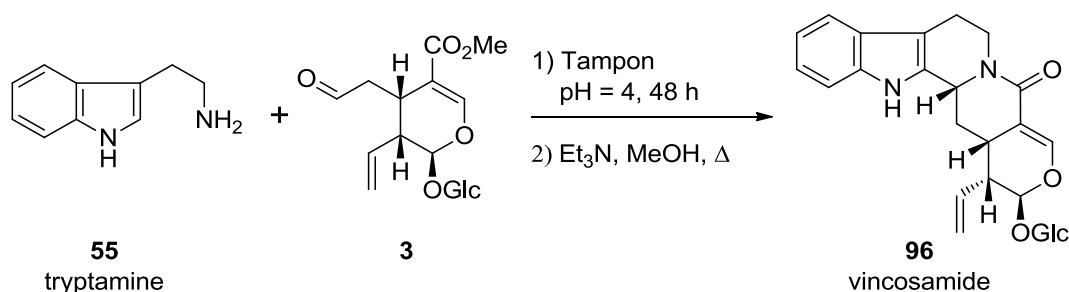


4.1.1.d) Synthèse de la camptothécine

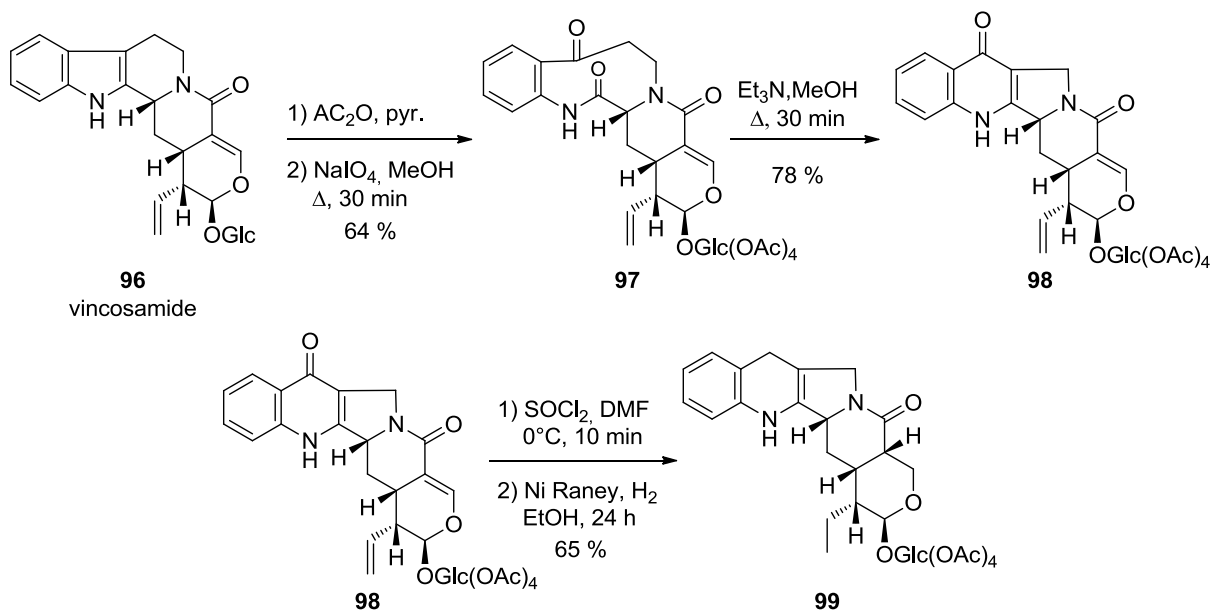
La synthèse biomimétique de la camptothécine (**67**) a été réalisée par Brown *et al.* en 2000⁷¹. La première étape consiste en la formation des lactames strictosamide (**45**) et vincosamide (**96**) par réaction du mélange strictosidine / vincoside : 2 / 3 avec Na₂CO₃.

Schéma 35 : Synthèse du mélange 2 / 3 : strictosamide **45** / vincosamide **96**

Le vincosamide (**96**) peut aussi être obtenu sélectivement lorsque le mélange strictosidine / vincoside : 2/3 est traité avec Et₃N. Pour la synthèse de la camptothécine (**67**), le centre asymétrique en C3 étant perdu au cours de l'aromatisation, le mélange de **45** et **96** peut être utilisé. Pour plus de clarté, nous décrirons la synthèse à partir du vincosamide (**96**) seul.

Schéma 36 : Synthèse sélective du vincosamide (**96**) à partir du sécologanoside (**3**)

Après acétylation et coupure oxydante par NaIO₄ du vincosamide (**96**), le composé **97** est obtenu avec un rendement de 64 %. La condensation aldolique en présence d'Et₃N conduit au composé **98**. La cétone est réduite par chlorination suivie d'une hydrogénation. Au cours de l'hydrogénation, les doubles liaisons du résidu monoterpénique sont aussi réduites, pour donner le composé **99**.

Schéma 37 : Synthèse du composé **99** à partir du vincosamide (**96**)

La réaromatisation de la quinoline et du lactame, suivie par la déacétylation, l'hydrolyse enzymatique et l'oxydation de l'hydroxyle résultant, permet l'accès au composé **100** avec un rendement de 24 % sur les quatre étapes. Le proton H20 est ensuite oxydé en groupement hydroxyle par $O_2 / CuCl_2$, cependant cette réaction n'est pas stéréosélective et le composé isolé est donc la camptothécine racémique (\pm)-**67**.

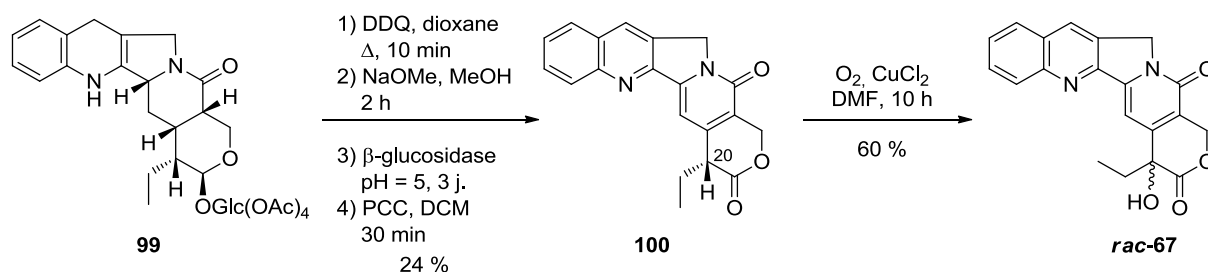


Schéma 38 : Synthèse de la (\pm)-camptothécine (**67**) à partir de **99**

4.1.1.e) Synthèse d'aspidospermanes

Afin d'étudier la biosynthèse des alcaloïdes de types aspidospermanes, Brown *et al.* ont effectué la synthèse énantiosélective de deux dérivés d'*Aspidosperma* à partir du sécologanoside (**3**)⁷². La synthèse implique l'aglycone de sécologanoside **101**, obtenu en 5 étapes à partir du sécologanoside (**3**). Ce composé se réarrange en **102**, après 3 jours à pH 7 et 37°C dans un mélange eau / acétone avec un rendement de 80 %.

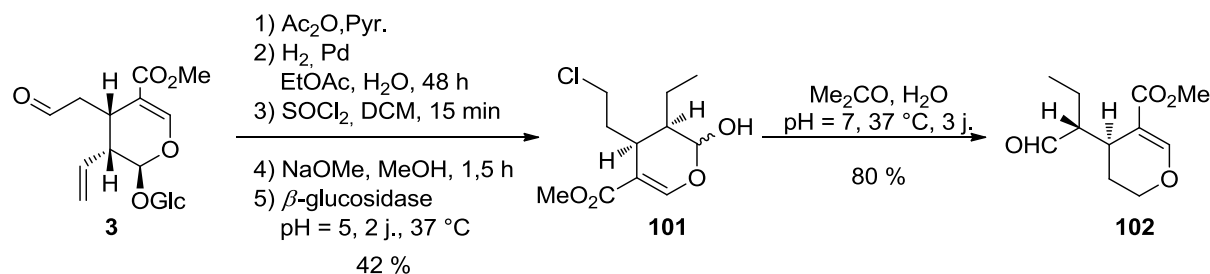


Schéma 39 : Synthèse de l'aglycone **102** à partir du sécologanoside (**3**)

Le couplage entre le composé **102** avec l'indolo-azépine **103** dans le MeOH à reflux conduit à un mélange du produit cinétique **104** (10 %) et du produit thermodynamique **105** (20 %).

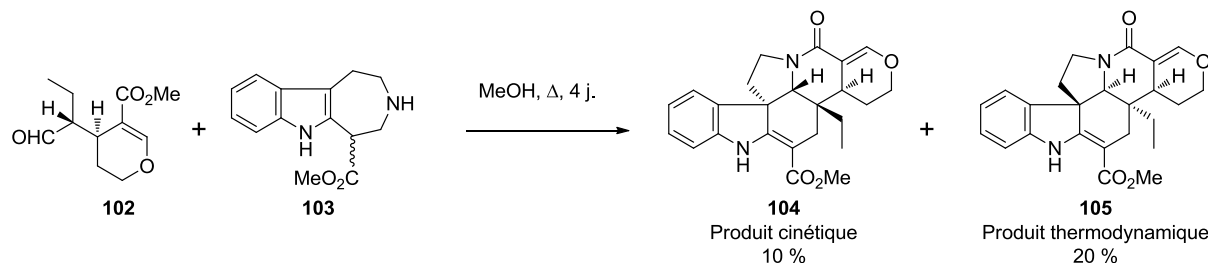


Schéma 40 : Formation du mélange **104** / **105** par couplage entre **102** et **103**

La formation du produit cinétique **104** passe par un intermédiaire de type sécodine **106**, cet intermédiaire peut subir une réaction de Diels-Alder intramoléculaire pour former le composé **104**. Le

chauffage de ce composé **104** à 65 °C pendant 6 jours dans le méthanol conduit à la formation quantitative du produit de Diels-Alder thermodynamique **105**.

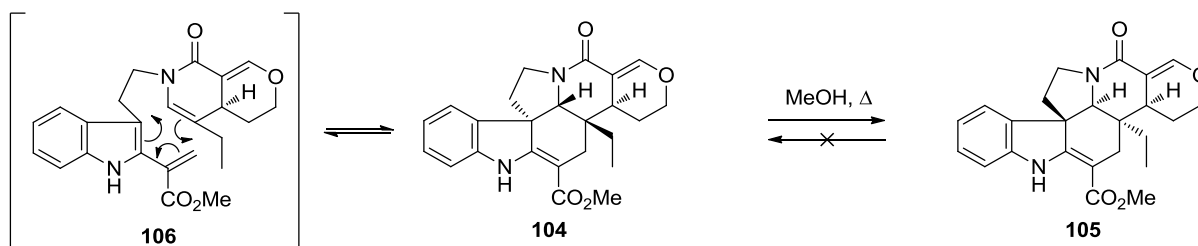


Schéma 41 : Mécanisme de formation de **104** à partir de la sécodine **106**

Cette synthèse a permis de valider l'intervention de l'intermédiaire sécodine **106** dans la biogénèse des alcaloïdes de type Aspidospermane (cf page 23).

4.1.1.f) Synthèse d'alcaloïdes des *Cinchona*

Les synthèses de la (+)-dihydrocinchonine (**107**) et de la (-)-dihydrocinchonine (**108**) ont été réalisées en huit étapes à partir du 8,9-déhydrosécologanoside (**109**) avec un rendement global de 28 %⁷³. La condensation de Knoevenagel entre le l'acide 4-quinolylacétique (**110**) avec **109** conduit au composé **111** avec un rendement de 90 %. Le composé **111** est ensuite converti en tétrahydronicotinate **112** par hydrolyse enzymatique et amination réductrice « one-pot » à pH 6,2 avec un rendement de 55 %.

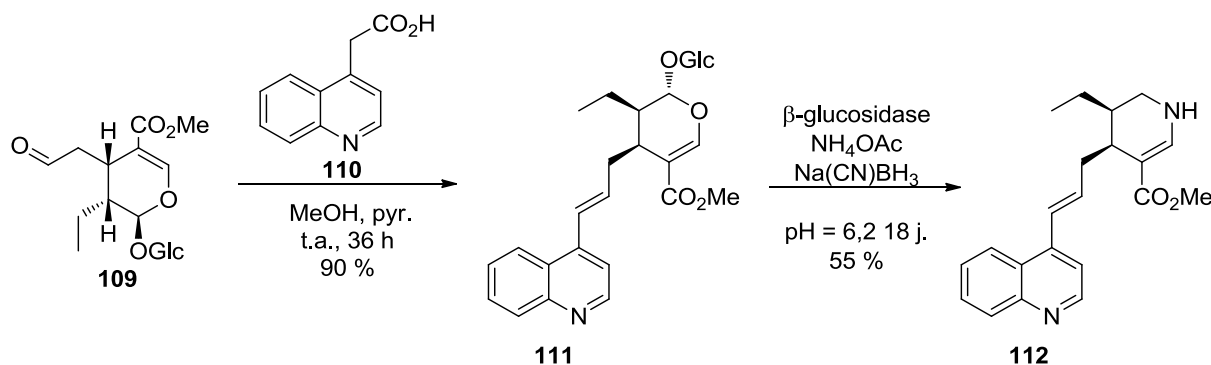
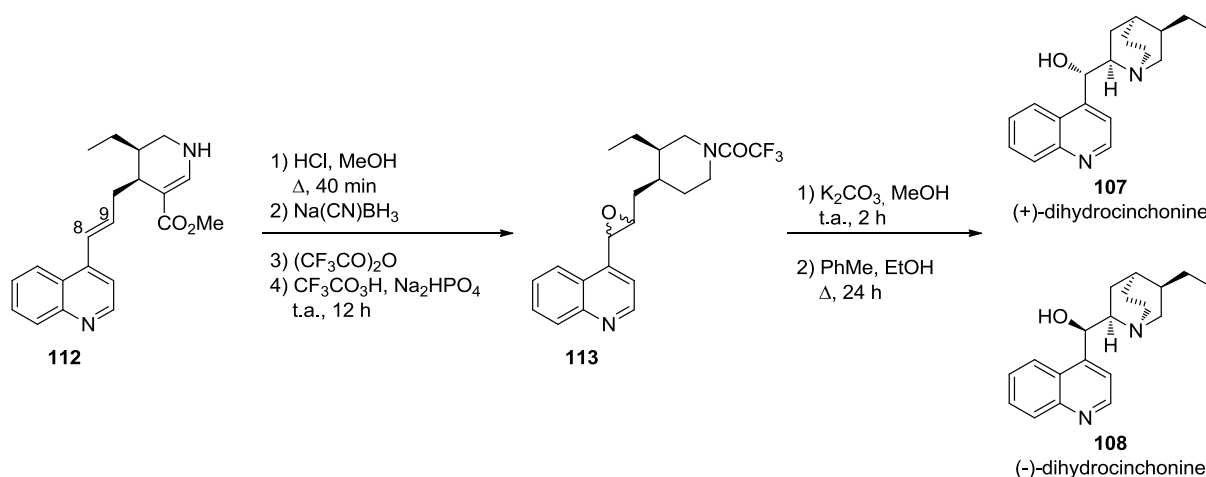


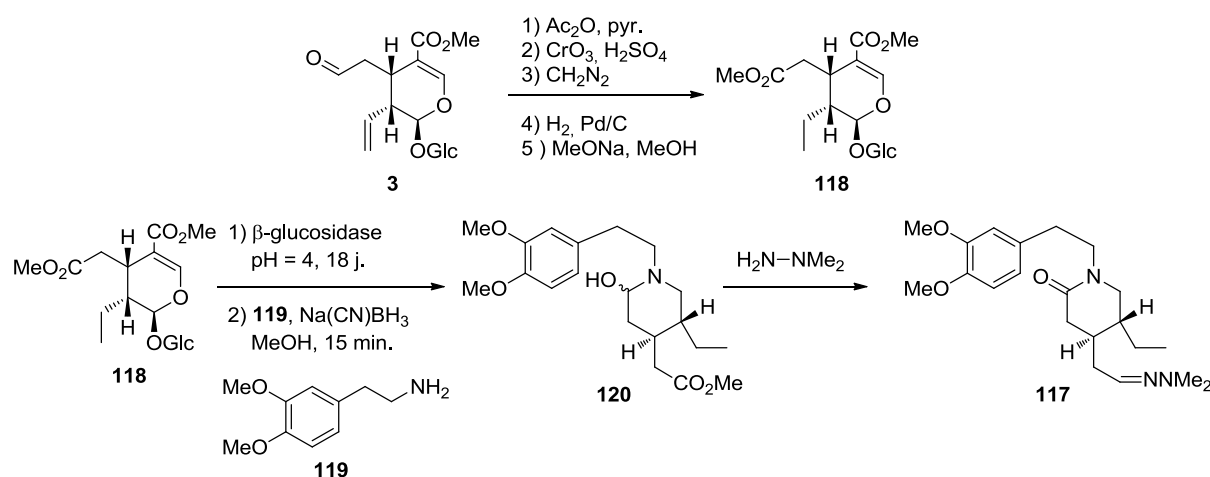
Schéma 42 : Synthèse du composé **112** à partir du sécologanoside (**3**)

Le composé **112** est alors décarboxylé, l'imine résultante est réduite par $\text{Na}(\text{CN})\text{BH}_4$, l'azote est protégé sous forme d'amide et la double liaison 8,9 est époxydée par l'acide trifluoropéruacétique, conduisant au mélange d'époxyde **113**. La déprotection de l'amide suivie de la cyclisation par l'amine secondaire libérée conduit au mélange de la (+)-dihydrocinchonine (**107**) et de la (-)-dihydrocinchonine (**108**) séparables par chromatographie sur gel de silice.

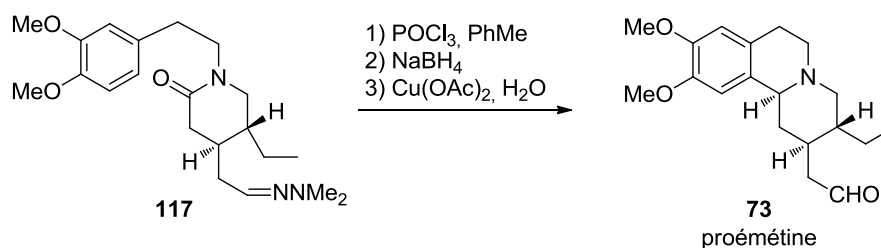
Schéma 43 : Synthèse de la (+)-dihydrocinchonine (**107**) et de la (-)-dihydrocinchonine (**108**)

4.1.1.g) Synthèse des alcaloïdes de l'Ipéca

La synthèse de cinq alcaloïdes de l'ipéca (proémétine (**73**), céphaeline (**114**), émétine (**74**), désoxytubulosine (**115**) et désoxyisotubulosine (**116**)) a été réalisée à partir d'un intermédiaire commun **117**⁷⁴. Cette pipéridone est obtenue en 9 étapes à partir du sécologanoside (**3**). La synthèse commence par l'acétylation du glucose, suivie de l'oxydation de l'aldéhyde⁷⁵, de la méthyloxylation de l'acide résultant, de l'hydrogénation de la double liaison C8-C10 et de la déprotection du sucre, pour donner le composé **118** avec un rendement global de 63 %. Le composé **118** est ensuite hydrolysé par la β -glucosidase à pH 5. L'amination réductrice en présence de la 2-(3,4-diméthoxyphényl)éthylamine (**119**) et du Na(CN)BH₃ suivie de la décarboxylation en milieu acide conduit au composé **120**. Le traitement de la carbinolamine **120** par un excès de *N,N*-diméthylhydrazine permet la formation de la pipéridone **117**.

Schéma 44 : Synthèse de l'hydrazone **117** à partir du sécologanoside **3**

La proémétine (**73**) est ensuite obtenue à partir de **117** via une cyclisation de Bischler-Napieralski, suivie de la réduction de la dihydroquinoline par NaBH₄ et de l'hydrolyse de l'hydrazone en présence de Cu(OAc)₂.

Schéma 45 : Formation de la proémétine **73** à partir de **117**

La proémétine (**73**) est convertie en désoxytubulosine (**115**) et désoxyisotubulosine (**116**) via une cyclisation de Pictet-Spengler avec la tryptamine (**55**). La céphaeline (**114**) est obtenue avec une faible quantité d'isocéphaeline (**121**) par cyclisation avec la 2-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)éthylamine (**122**). La céphaeline (**114**) est convertie en émétine (**74**) par méthylation en présence de diazométhane.

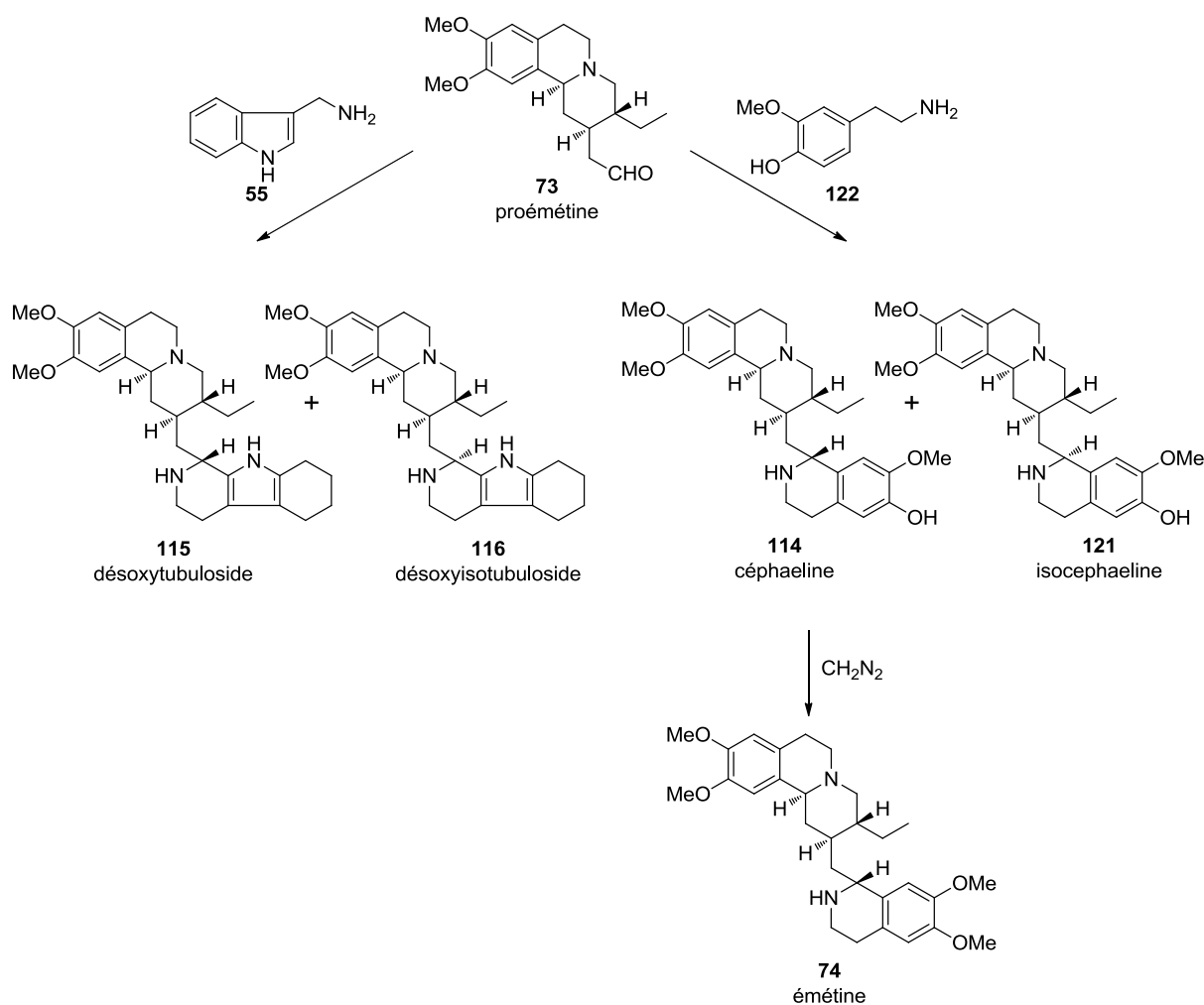


Schéma 46 : Synthèse de 5 alcaloïdes de l'ipéca

4.1.2 Synthèse d'alcaloïdes monoterpéniques hétérosidiques

4.1.2.a) Synthèse de la dihydrocadambine et de la cadambine

Les synthèses de la 3 α -dihydrocadambine (**123a**) et de la 3 β -dihydrocadambine (**123b**) ont été effectuées à partir du sécologanoside (**3**) en 7 étapes par McLean *et al* en 1983. L'intermédiaire clé est le diol **124a** dont nous verrons la formation plus en détail dans la partie 4.1.4.a). Le composé instable **125** est ensuite couplé avec la tryptamine (**55**) dans des conditions d'amination réductrice Na(CN)BH₃ pour donner le mélange d'épimères **126**. La réaction de Pictet-Spengler et la déprotection du sucre par l'acide formique conduisent à la formation de la 3 α -dihydrocadambine (**123a**) (40 %) et de la 3 β -dihydrocadambine (**123b**) (33%)⁷⁶.

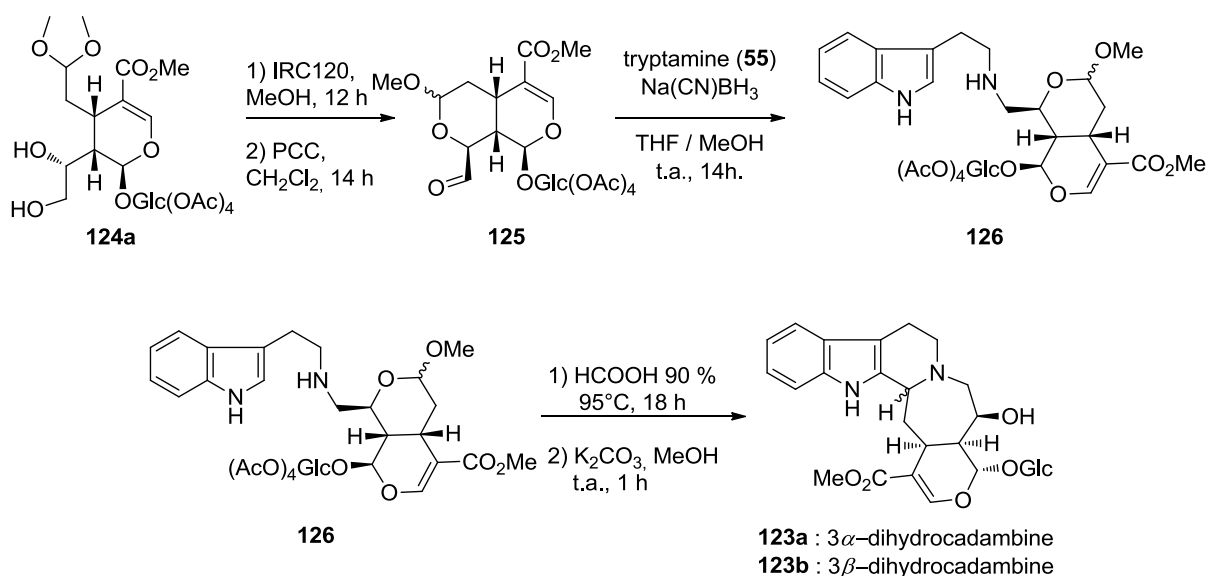


Schéma 47 : Synthèse de la 3 α -dihydrocadambine (**123a**) et de la 3 β -dihydrocadambine (**123b**) à partir du diol **124a**

En 1991, Brown *et al.* ont réalisé la synthèse stéréosélective de la cadambine (**127**) à partir du sécologanoside (**3**) en 8 étapes⁷⁷. Après protection du glucose et oxydation du sécologanoside (**3**), l'iodolactonisation du composé **128** permet la formation stéréosélective du composé **129** avec un rendement de 79 %. Le traitement de **129** par NaOEt, déprotège le sucre et la forme l'époxyde **130**. La réaction entre **130** et la tryptamine (**55**) dans l'EtOH à reflux pendant 5 jours suivie de l'acétylation conduit au composé **131** avec un rendement de 68 % à partir de **128**. Le traitement par POCl₃ dans le toluène au reflux, puis la déacétylation du glucose par NaOEt permettent l'obtention de cadambine (**127**) avec un rendement de 85 %.

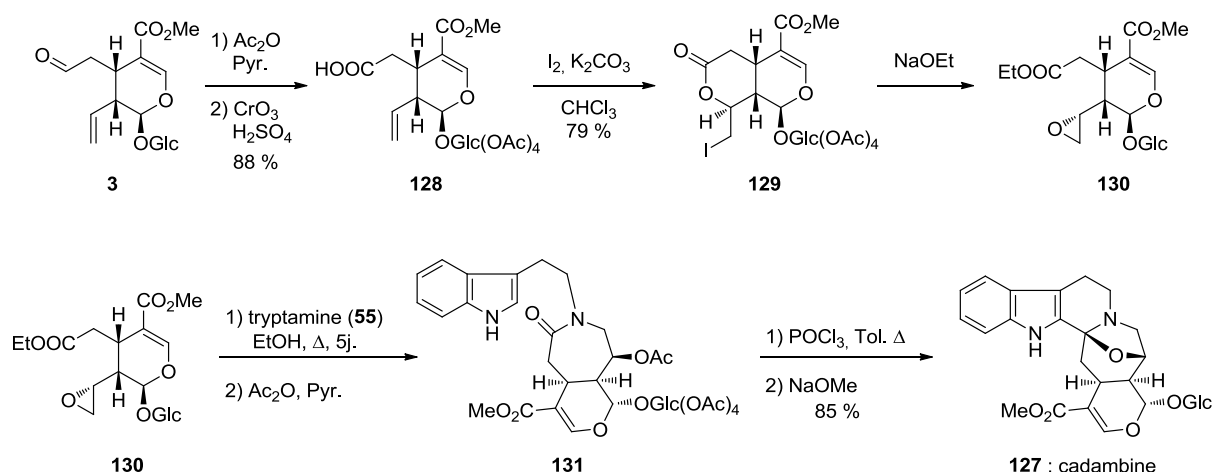


Schéma 48 : Synthèse stéréosélective de la cadambine (127) à partir du sécologanoside (3)

4.1.2.b) Synthèse du lyaloside

La synthèse du lyaloside (**132**) un gluco-alcaloïde de type β -carboline commence par la condensation entre le tryptophane et le tétraacétate de sécologanoside (**133**) pour donner un mélange d'épimères **134a-b** qui n'est pas séparé. L'oxydation par le perchromate de potassium conduit à la formation du cycle pyridine de la β -carboline. La déprotection des hydroxyles du glucose par la méthode de Zemplén donne accès au lyaloside (**132**)⁷⁸.

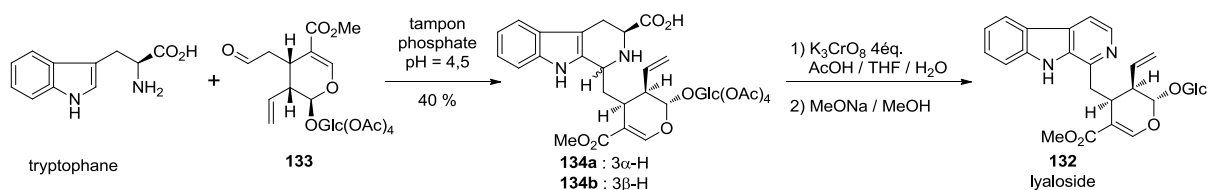


Schéma 49 : Synthèse du lyaloside (132) à partir du tétracétylsécologanoside (133)

4.1.2.c) Synthèse du néoalangsicide

La synthèse du néoalangsicide (**135**) un gluco-alcaloïde extrait d'*Alangium lamarckii* (Alangiaceae)⁷⁹ a été effectuée à partir du tétraacétylsécologanoside (**133**) et de la dopamine protégée **136**. Le composé **137** est obtenu avec un rendement de 31% après condensation dans un mélange MeOH / AcOH au reflux. La débromination et la déprotection du sucre permet l'obtention du néoalangsicide (**135**) avec un rendement de 54 % sur les deux étapes.

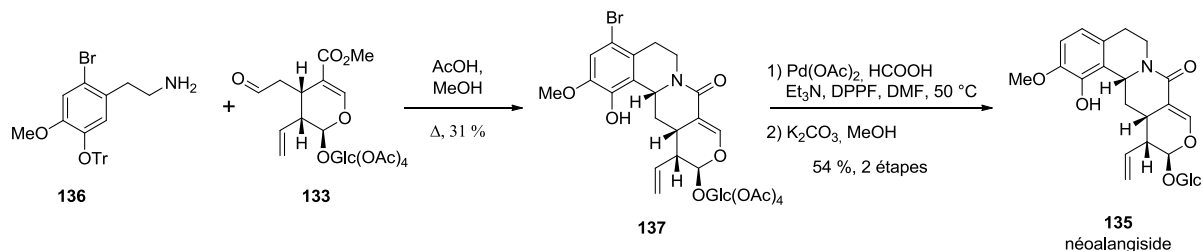


Schéma 50 : Synthèse du néoalangsicide (135) à partir du tétracétylsécologanoside (133)

4.1.3 Synthèse du bakankoside

Le bakankoside (**43**) est un des rares sécoiridoïdes à posséder un atome d'azote. Sa synthèse à partir du sécologanoside (**3**) a été réalisée par Tietze *et al.* en 1989⁸⁰. Bien que le bakankoside (**43**) soit probablement issu biogénétiquement d'une amination réductrice suivie de la lactamisation, tous les essais pour obtenir le bakankoside (**43**) par cette méthode conduisent à de très faibles rendements. En revanche lorsque l'amination réductrice est réalisée sur le tétracétylsécologanoside (**133**) avec la benzylamine, le lactame **138** est obtenu avec un rendement de 60 à 70 %.

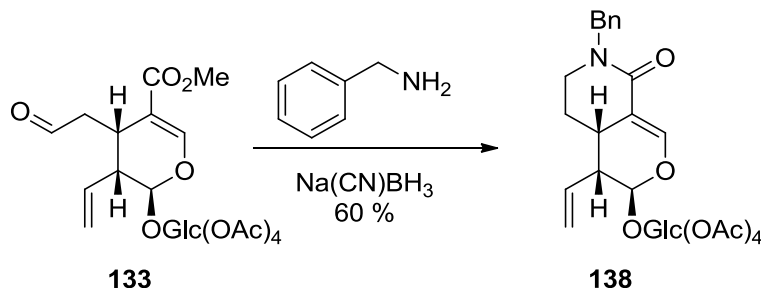


Schéma 51 : Formation du composé **138** par amination réductrice

Cependant les auteurs n'ont pu déprotéger l'amine sélectivement sans réduire la double liaison C8-C10. Les auteurs ont alors envisagé l'introduction de l'amine *via* un groupement azido. Pour effectuer cette transformation, le sécologanoside (**3**) est facilement réduit en sweroside (**4**) par NaBH_4 . Le sweroside (**4**) est alors acétylé en **139** avec un rendement de 85 % sur les deux étapes. La lactone du sweroside est ensuite ouverte par le TMSI et l'acide carboxylique est méthoxylé par le diazométhane pour donner le composé **140**. Le groupement azido est introduit par substitution de l'iode par le NaN_3 pour donner le composé **141** avec un rendement de 65 %.

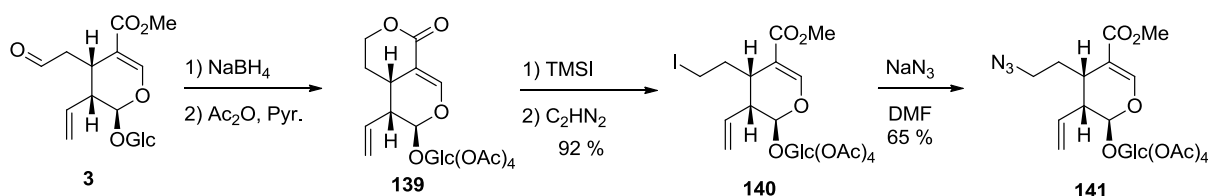


Schéma 52 : Synthèse de l'azide **141** à partir du sécologanoside **3**

Le groupement azido est ensuite réduit par le 1,2-éthanedithiol, conduisant à la formation du lactame. Le sucre est alors déprotégé par EtONa pour conduire au bakankoside (**43**).

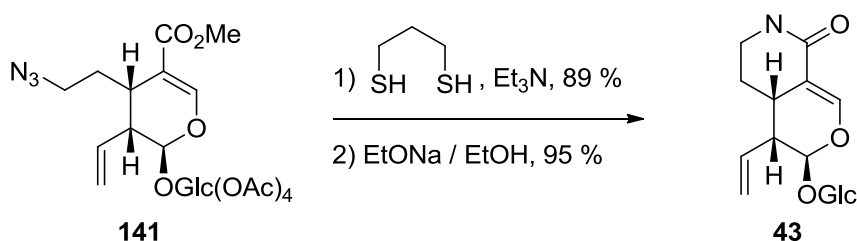


Schéma 53 : Synthèse du bakankoside (**43**) à partir de **141**

Cette séquence réactionnelle nous permet de constater que la conversion du sécologanoside (**3**) en sweroside (**4**) a lieu facilement par réduction. Nous verrons dans le Chapitre 3 que la conversion inverse est beaucoup plus difficile. Nous pouvons aussi noter que le sweroside (**4**) pourrait être directement utilisé comme matière première pour la synthèse du bakankoside (**43**).

4.1.4 Les analogues de sécologanoside

Au début des années 1980, McLean *et al.* ont étudié les réactions de dihydroxylation⁸¹ et d'époxydation⁸² du sécologanoside (**3**) et du sweroside (**4**). Plus récemment des analogues alkylés de la double liaison exocyclique et des dérivés transestérifiés ont été décrits par l'équipe d'O'Connor⁸³.

4.1.4.a) Dihydroxylation du sécologanoside et du sweroside

La première description de la dihydroxylation du tétraacétate de sweroside **139** est effectuée par Bock *et al.* en 1976²⁷. La réaction est effectuée avec le tétroxyde d'osmium et le produit majoritairement isolé (38 %) est le mélange de diols **142** au niveau de la liaison C8-C10. Après séparation des diols acétylés, la configuration des alcools secondaires de chaque composé a été déterminée par comparaison avec les dérivés ouverts du sécogalioside (**26**) (cf page 14). En 1980, McLean *et al.* optimisent le rendement par l'ajout de NMO catalytique. Les diols **142a** et **142b** sont obtenus avec un bon rendement dans un ratio 3 / 2 et sont séparés sur HPLC⁸¹.

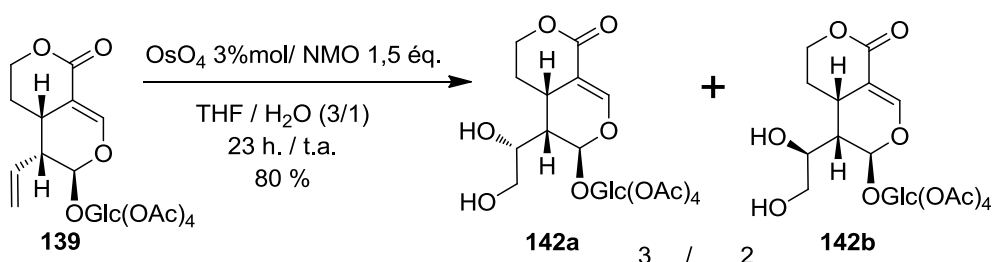


Schéma 54 : Dihydroxylation du tétraacétate de sweroside (**139**)

Dans le cas du sécologanoside (**3**), la dihydroxylation conduit à un mélange de produits non caractérisés. Lorsque l'aldéhyde du composé **133** est protégé sous forme de diméthylacétal **143**, il apparaît que la chaîne latérale C8-C10 est sélectivement oxydée au début de la réaction, mais lorsque que la réaction est prolongée, une sur-oxydation est observée au niveau de la double liaison endocyclique C3-C4.

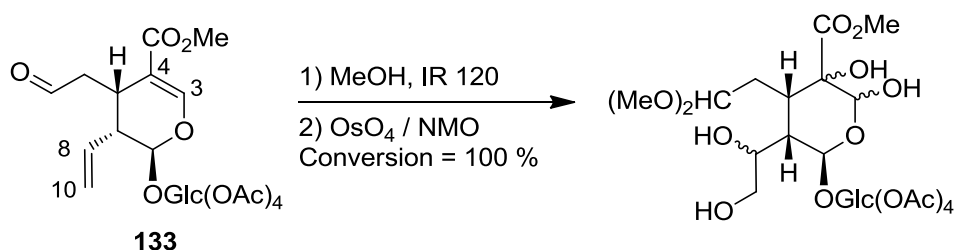


Schéma 55 : Dihydroxylation complète du diméthylacétal de tétraacétate de sécologanoside

Les meilleurs résultats en termes de chimiosélectivité sont obtenus lorsque la réaction est arrêtée avant 50 % de conversion. Dans ces conditions les auteurs ont pu isoler le mélange de diols **124a** et **124b** et le diméthylacétal de sécologanoside (**134**) n'ayant pas réagi. Le mélange de diols est obtenu avec un faible rendement de 20 %. Bien que peu chimiosélective, cette réaction est très stéréosélective : le ratio des diols **124a** et **124b** est de 91 / 9.

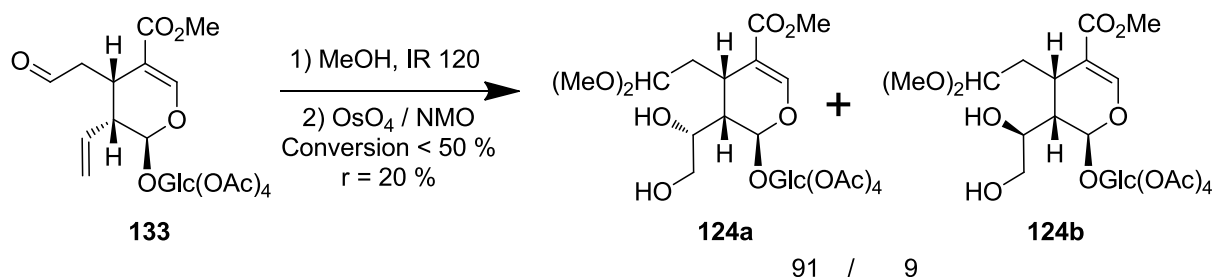


Schéma 56 : La dihydroxylation est arrêtée avant la deuxième addition d'osmate

Ainsi nous pouvons dégager deux observations :

- Pour le **sweroside** : la **dihydroxylation** par le OsO_4 est **chimiosélective** de la double liaison exocyclique et peu stéréosélective.
- Pour le **sécologanoside** : la **dihydroxylation** par le OsO_4 est **faiblement chimiosélective** et grandement stéréosélective.

Les auteurs expliquent ces différences par des effets conformationnels imposés par la structure de ces deux molécules. Dans le cas du sweroside (**4**), la lactone rigidifie la conformation du dihydropyrane sous forme de demi-chaise. Dans cette conformation, la liaison C8-C9 de **139** adopte une position axiale et il n'y a pas de gêne stérique pour l'approche de l'osmate. La double liaison endocyclique, stériquement encombrée par la lactone et le glucose, est moins réactive à l'attaque du tétraoxyde d'osmium.

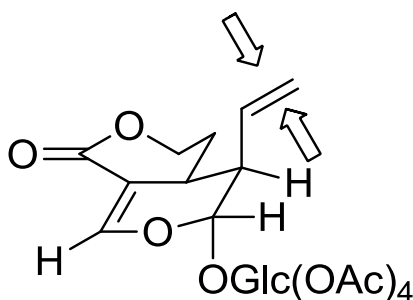
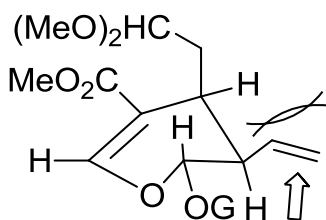


Schéma 57 : Conformation préférentielle du tétraacétate de sweroside (**139**)

Dans le cas du sécologanoside (**3**), la conformation est plus flexible, elle peut changer en fonction des conditions (solvants, forme aldéhyde ou diméthylacétal). Ainsi la conformation où le substituant en C9 est équatorial est favorisée lors de l'attaque de l'osmate. De plus le glucose se place aussi en position

équatorial, provoquant un encombrement stérique au niveau de la chaîne vinyle. Ainsi la réactivité de la double liaison endocyclique augmente, expliquant ainsi la sur-oxydation observée.



G : tetraacetyl- β -D-glucopyranosyl

Schéma 58 : Conformation préférentielle du diméthylacétal de tétraacétylsécologanoside (**143**)

4.1.4.b) Epoxydation du sweroside et du sécologanoside

La première réaction d'époxydation du tétraacétylsweroside **139** a été réalisée par Inouye *et al.* en présence de *m*CPBA pour effectuer la corrélation chimique entre le sweroside (**4**) et l'aspéruloside (**144**, structure page 45). Les auteurs ont isolé un seul époxyde **145a** avec un rendement de 35 %⁸⁴. Lorsque McLean *et al.* reproduisent la réaction, ils isolent un mélange des époxydes **145a** et **145b** avec un ratio de 7 / 2 et un rendement de 42 %⁸².

La réaction d'époxydation du sweroside acétylé (**139**) est donc régiosélective de la double liaison exocyclique et faiblement stéréosélective.

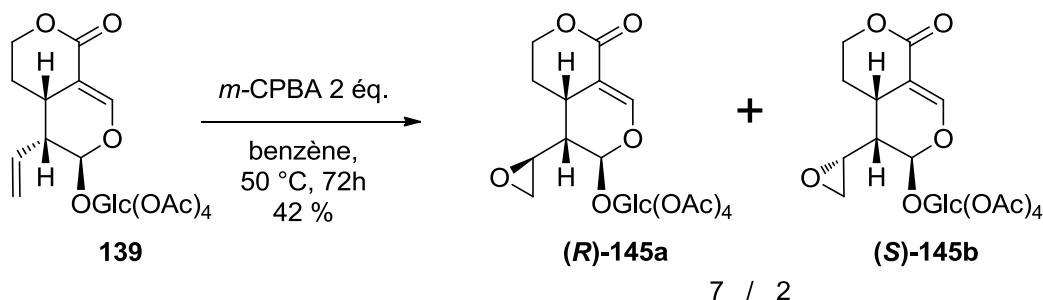


Schéma 59 : Epoxydation du composé **139**

Lorsque le diméthylacétal de tétraacétylsécologanoside (**143**) est traité par le *m*CPBA dans les mêmes conditions, l'oxydation a lieu plus rapidement et trois produits sont identifiés. Le bis-époxyde **146** est le composé majoritaire isolé avec un rendement de 44 % et le mono-époxyde **147** avec un rendement de 19 %. Le composé **148** n'est pas isolé mais est identifié comme une impureté ($\approx 9\%$) dans **146**. La configuration absolue du bis-époxyde **146** a été déterminée par rayons X⁸⁵.

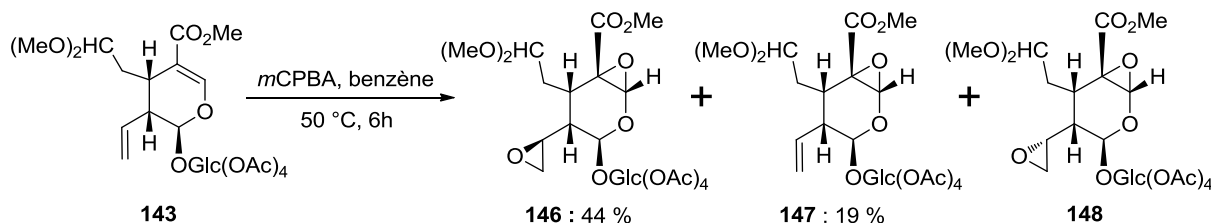


Schéma 60 : Epoxydation du diméthylacétal de tétraacétylsécologanoside (**143**)

Ces résultats montrent que la réaction d'époxydation est plus rapide au niveau de la double liaison endocyclique. Le composé majoritaire **146** est obtenu avec une stéréosélectivité complète en C3-C4 et élevée en C8-C10, conduisant à l'isomère *R* en C8 comme produit majoritaire. Selon les auteurs, cette stéréosélectivité peut s'expliquer par un état de transition proche du modèle décrit Schéma 58 (cf page 39) pour les réactions de dihydroxylation. Dans cette conformation le sucre est en position équatoriale favorisant l'approche du peracide en anti du glucose, conduisant ainsi à la bonne stéréosélectivité observée. Concernant la régiosélectivité, les auteurs n'ont pas trouvé d'explication claire. La réactivité particulière de la double liaison endocyclique serait une hypothèse vraisemblable. En effet, cette double liaison est fortement activée vis-à-vis des attaques électrophiles par la présence de l'oxygène sur le C4, mais elle est cependant désactivée par la présence du carbonyle en C11. Cette désactivation est d'autant plus forte lorsque le carbonyle et l'oléfine sont coplanaires comme dans le cas du sweroside (**4**). Dans le cas du sécologanoside (**3**) le carbométhoxy étant en rotation libre, l'effet de désactivation diminue.

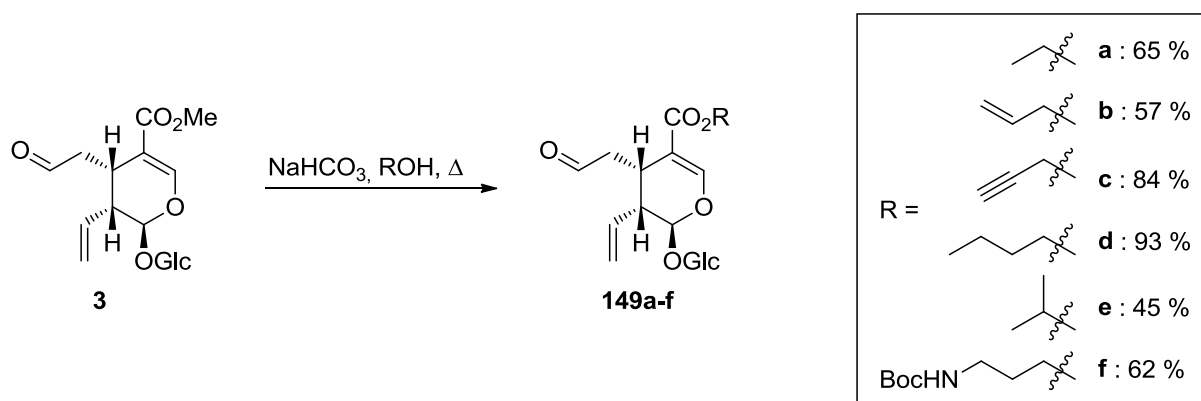
Comme pour la dihydroxylation nous pouvons dégager plusieurs observations concernant la réaction d'époxydation :

- Pour le sweroside (**4**) : l'époxydation est régiosélective de la double liaison exocyclique et faiblement stéréosélective.
- Pour le sécologanoside (**3**) : la première époxydation est régiosélective de la double liaison endocyclique et fortement stéréosélective. La deuxième époxydation est plus rapide que la première et elle est peu stéréosélective.

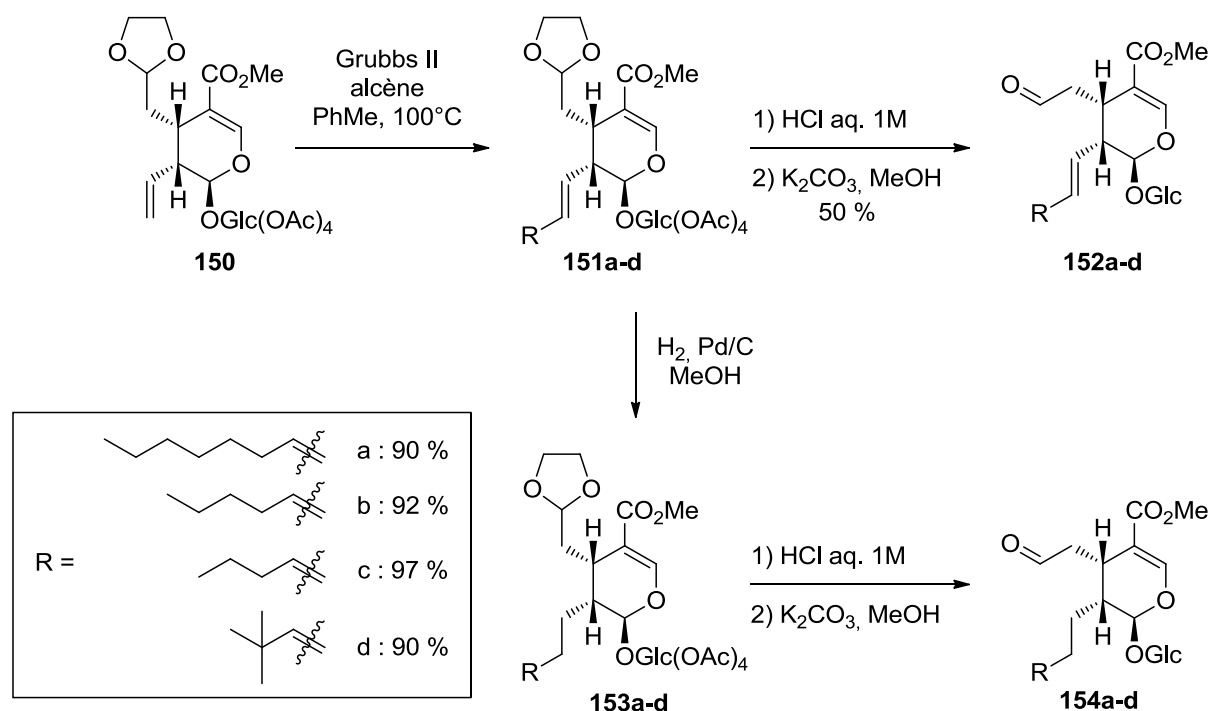
Ainsi ces différentes études montrent que pour effectuer des réactions d'oxydation régiosélective de la double liaison endocyclique, il est absolument nécessaire d'avoir la forme lactone du sweroside.

4.1.4.c) Analogues de sécologanoside par modification des fonctions ester et vinyle

Dans le but d'évaluer la spécificité de la strictosidine synthase (STR) qui catalyse la formation de strictosidine (**44**)⁸⁶, l'équipe d'O'Connor a synthétisé des analogues de sécologanoside modifiés au niveau de la fonction ester **149a-f**⁸³. La transestérification a lieu à partir du sécologanoside (**3**) dissous dans un alcool en présence de NaHCO₃. Les auteurs ont synthétisé six nouveaux analogues avec des rendements allant de moyen (45%) à bon (93 %).

Schéma 61 : Formation d'analogues de sécologanoside transestérifiés **149a-f**

Dans cette même étude⁸³, les auteurs ont synthétisé des analogues alkylés au niveau de la double liaison exocyclique. Les analogues sont obtenus *via* une réaction de métathèse des oléfines en présence de catalyseur de Grubbs II dans le toluène à 100°C. Pour que la réaction ait lieu, il est nécessaire que le sucre soit acétylé et que l'aldéhyde soit protégé sous forme d'acétal. La réaction de métathèse entre **150** et différents alcènes fournit les composés **151a-d** avec un bon rendement (90-90 %) et est stéréosélective de l'isomère *E*. L'acétal est déprotégé par traitement avec une solution aqueuse de HCl (1 M) et les acétates sont déprotégés par K₂CO₃ pour donner les composés **152a-d** avec un rendement d'environ 50 % sur les 2 étapes. Les composés **151a-d** ont été hydrogénés pour donner les composés **153a-d** qui sont déprotégés par la même séquence que précédemment pour fournir les composés **154a-d**.

Schéma 62 : Formation d'analogues alkylés en C10 du sécologanoside **152a-d** et **154a-d**

Ces composés ont été incubés en présence de tryptamine (**55**) (ou de dérivés de tryptamine) en présence de la Strictosidine Synthase. Il apparaît que les analogues transestérifiés du sécologanoside **149a** et **149b** sont reconnus par l'enzyme. En revanche les analogues vinyliques avec des groupements encombrants comme **152a** et **152b** ne le sont pas. Aucune information sur les autres composés synthétisés n'est donnée dans cette étude⁸⁶.

Ainsi il apparaît nécessaire de synthétiser des dérivés de sécologanoside en C8-C10 moins encombrés (époxyde, diols) afin de tester la spécificité de la STR sur ces composés.

4.2 Le sweroside comme matière première chirale

Le sweroside (**4**) est généralement isolé concomitamment avec le sécologanoside (**3**) et avec les mêmes rendements dans le *Lonicera tatarica*. Pourtant la réactivité de ce composé a été très peu étudiée et contrairement au sécologanoside (**3**), il est rarement utilisé en tant que matière première chirale. Nous avons vu précédemment les réactions d'époxydation et de dihydroxylation du sweroside (**4**). De plus nous avons montré que le sweroside (**4**) peut servir de produit de départ pour la synthèse du bakankoside (**43**). Les autres réactions engageant le sweroside (**4**) décrites dans la littérature ne concernent que la formation des aglycones du sweroside.

4.2.1 Synthèse des aglycones de sweroside

Contrairement aux aglycones du sécologanoside qui peuvent être sujet à de nombreux réarrangements, l'aglycone primaire du sweroside est stable. D'après Drewes *et al.*⁸⁷ l'hydrolyse enzymatique par la β -glucosidase à pH 6,8 et à 37°C pendant 5 h conduit à la formation de l'aglycone primaire **155** avec un rendement de 47 %.

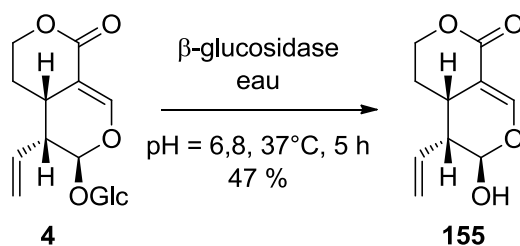
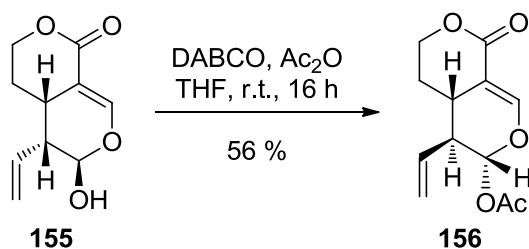
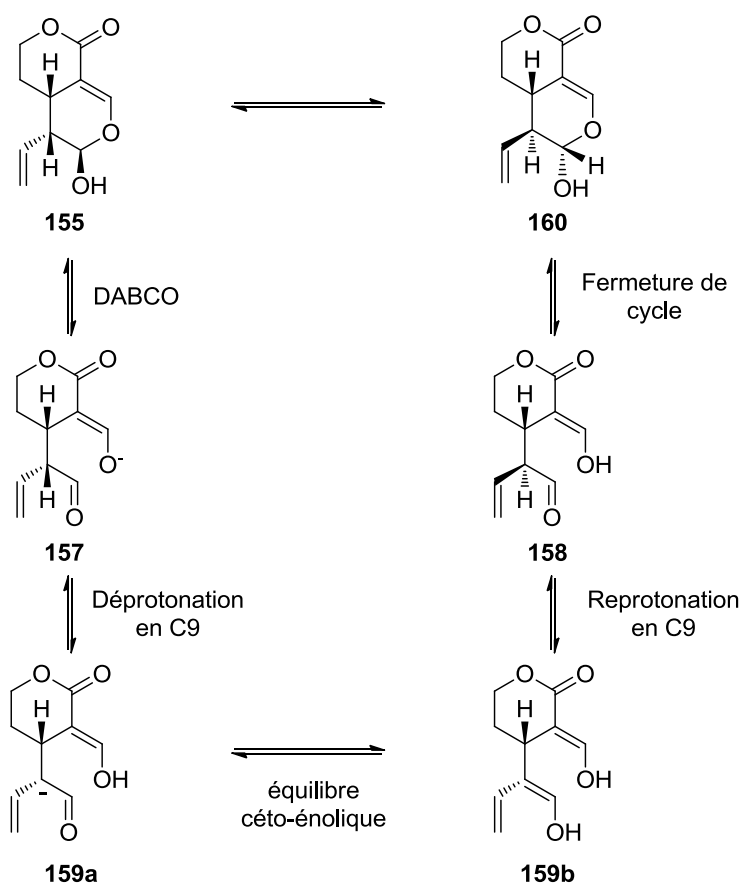


Schéma 63 : Hydrolyse enzymatique du sweroside (**4**)

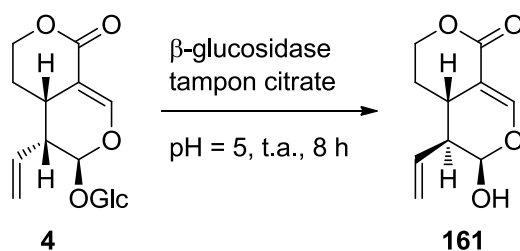
En étudiant la réaction d'acétylation du composé **155**, les auteurs ont observé que lorsque la réaction est effectuée avec le DABCO (1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane) comme base, les positions H1 et H9 sont épimérisées. Le composé **156** a pu être recristallisé dans l'EtOH et la structure du composé isolé **156** a été confirmée par diffraction des rayons X.

Schéma 64 : Epimérisation en C1 et C9 lors de l'acétylation de l'aglycone du sweroside **155**

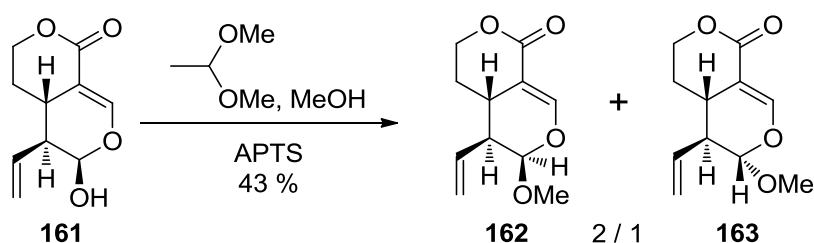
Les auteurs suggèrent que la double épimérisation a lieu avant l'acétylation et que le réarrangement procède par une ouverture du pyrane pour donner **157**, suivie par une épimérisation en C9 (composé **158**) *via* un équilibre céto-énolique (**159a-b**), la refermeture du cycle forme l'épimère en C1 **160** (et probablement l'autre isomère non isolé).

Schéma 65 : Mécanisme d'épimérisation du composé **155** par le DABCO

Une épimérisation en C9 peut aussi avoir lieu lorsque le sweroside (**4**) est hydrolysé par β -glucosidase à pH 5 et à température ambiante pendant 8 h. Dans ces conditions, le composé majoritaire est **161**, l'épimère en C9 de **155**^{84,88}.

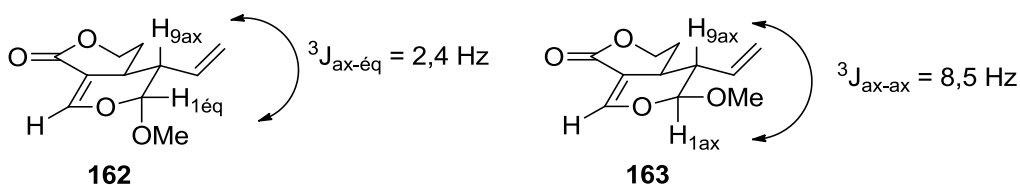
Schéma 66 : Hydrolyse enzymatique épimérisante du sweroside (**4**)

Ce composé a été utilisé pour obtenir les deux épimères en C1 *via* une méthylation de l'hydroxyle par le diméthoxypropane dans le méthanol à reflux pendant 8 heures en présence d'APTS (acide *p*-toluènesulphonique). Le mélange 2/1 des composés **162** et **163** est obtenu avec un rendement global de 43 %.

Schéma 67 : Formation du mélange d'épimères **162** et **163** par méthylation du composé **161**

La valeur de la constante de couplage entre les protons H5 et H9 permet de connaître la configuration relative du proton H9 par rapport à H5. En effet dans les composés **162** et **163** la constante de couplage $^3J_{5-9\text{trans}} = 11,3 \text{ Hz}$ ce qui correspond aux isomères *trans*. Par comparaison les isomères *cis* (comme **155**) possèdent une constante de couplage $^3J_{5-9\text{cis}} = 5,5 \text{ Hz}$.

La constante de couplage entre H9 et H1 permet de déterminer la position de H1 et d'en déduire la configuration absolue de la molécule. En effet pour **162**, $^3J_{9-1} = 2,4 \text{ Hz}$ ce qui correspond à une constante de type axiale équatoriale, tandis que pour **163**, $^3J_{9-1} = 8,5 \text{ Hz}$ ce qui correspond bien à une constante de type axiale-axiale.

Schéma 68 : Constantes de couplage entre les protons H1 et H9 dans **162** et **163**

Enfin lorsque le proton H1 est en β la valeur de la rotation spécifique change de signe soit $[\alpha]_D > 0$ de même, la valeur d'absorption maximale en dichroïsme circulaire est aussi supérieure à zéro.

Ces données spectrales peuvent servir de base pour la comparaison avec des composés naturels ou de synthèses.

4.3 Réactivité de l'oleuropéine

L'oleuropéine (**2**) est une molécule abondante (6-9 % dans les feuilles d'*Olea europaea*⁸⁹) et facilement accessible, cependant elle a été assez peu utilisée en synthèse. Les principales réactions réalisées sur l'oleuropéine (**2**) sont l'hydrolyse du sucre, la réduction des esters et l'hydrolyse de l'ester 3,4-dihydroxyphénéthylque.

4.3.1 Détermination de la structure de l'oleuropéine

En 1908, Bourquelot et Viniesco isolent un glucoside en proportion assez élevée et à la « saveur franchement amère » des feuilles et des fruits d'*Olea europaea*⁹⁰. Ils nomment ce composé qu'ils n'ont pu cristalliser : oleuropéine (**2**). Il faudra attendre 1960 pour que la structure de l'oleuropéine (**2**) soit décrite par Pannizzi *et al.*²⁶, puis 1970 pour qu'Inouye *et al.* décrivent sa configuration absolue⁹¹. Ces derniers la confirmeront en 1974⁹² par corrélation chimique avec l'aspéruloside (**144**).

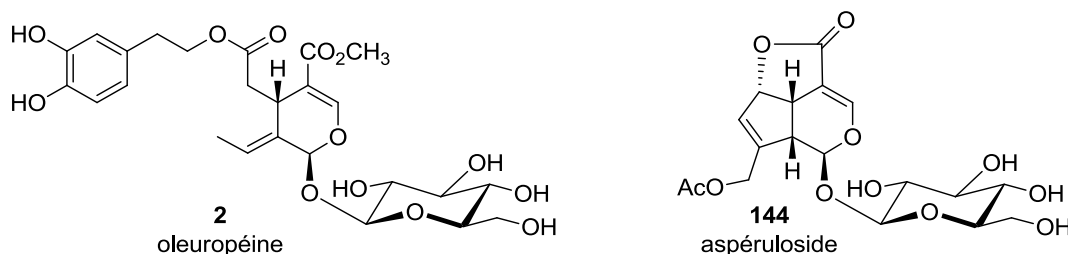
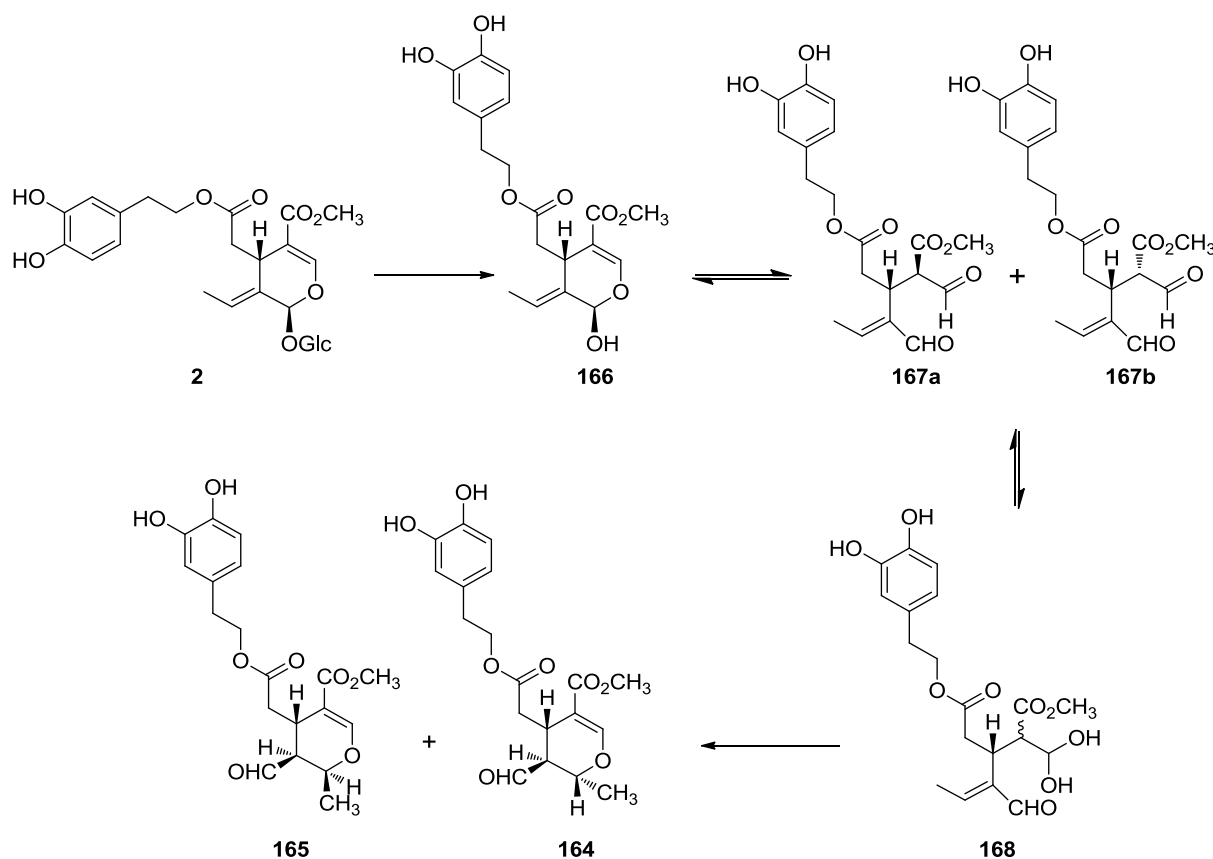


Schéma 69 : Structure de l'oleuropéine (**2**) et de l'aspéruloside (**144**)

4.3.2 Hydrolyse du glucose de l'oleuropéine

L'hydrolyse du sucre de l'oleuropéine (**2**) a été étudiée par voie enzymatique^{26,93,94} ou chimique^{94,24}. L'hydrolyse enzymatique a été effectuée afin de comprendre les mécanismes de certaines molécules isolées au cours de l'extraction des feuilles d'*Olea europaea* ou au cours de la production d'huile d'olive. Ces travaux ont permis d'élucider le mécanisme d'hydrolyse de l'oleuropéine (**2**) conduisant à la formation des aglycones **164** et **165**⁹⁵. En 2005, Guiso *et al.* montrent que le mécanisme est le même en utilisant une β -glucosidase d'amande commerciale ou des β -glucosidases endogènes⁹⁶. La première étape est la coupure de la liaison osidique qui libère l'aglycone instable **166**. Cet aglycone a pu être isolé et caractérisé par Bianco *et al.*⁹⁷ avec un rendement de 2,8 % à partir de l'oleuropéine (**2**). L'étape suivante est l'ouverture de l'hémiacétal qui conduit au mélange *R* et *S* du dialdéhyde **167**. Le dialdéhyde **167** est en équilibre avec la forme hydratée **168**⁹⁸ qui cyclise pour donner **164** et **165**. Ces deux composés sont les formes stables de l'aglycone de l'oleuropéine. Selon les conditions d'hydrolyse les rapports entre **167**, **164** et **165** peuvent varier, mais le composé **164** est toujours le majoritaire.

Schéma 70 : Mécanisme d'hydrolyse de l'oleuropéine (2) par la β -glucosidase

Lorsque l'hydrolyse de l'oleuropéine (2) est effectuée par voie chimique par l'action de 5 équivalents d'acide sulfurique, le composé isolé est l'acide élénolique (169) avec un rendement de 7 %²⁴

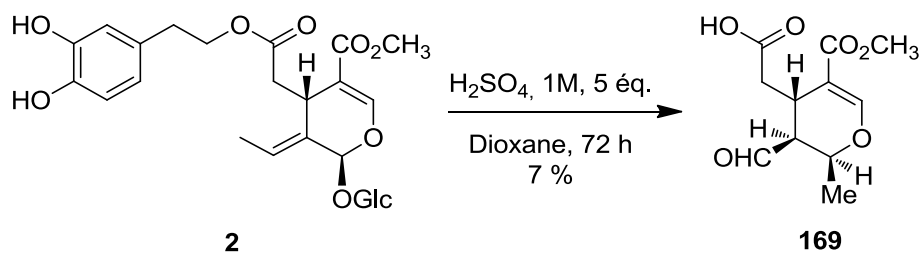
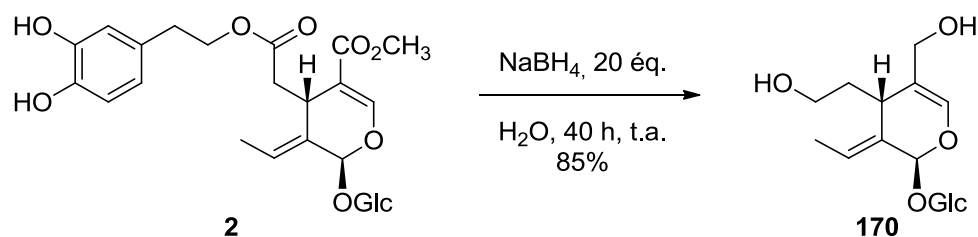


Schéma 71 : Hydrolyse acide de l'oleuropéine (2)

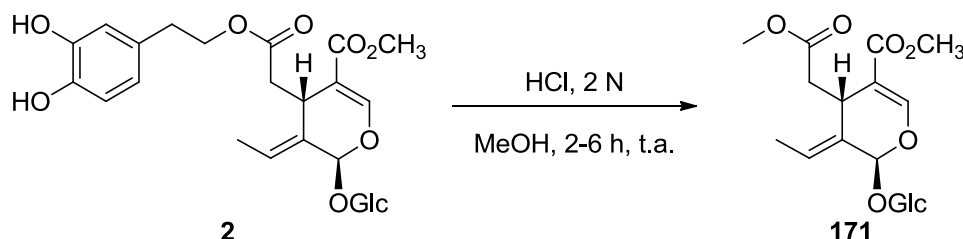
Les réactions d'hydrolyse du glucose de l'oleuropéine (2) conduisent avec de très faibles rendements à différents types d'aglycones structuellement intéressants. Cependant toutes ces études ont été faites sur de faibles quantités ou parfois en tube RMN. Ainsi aucune méthode préparative reproductible n'est vraiment au point.

4.3.3 Réduction des esters de l'oleuropéine

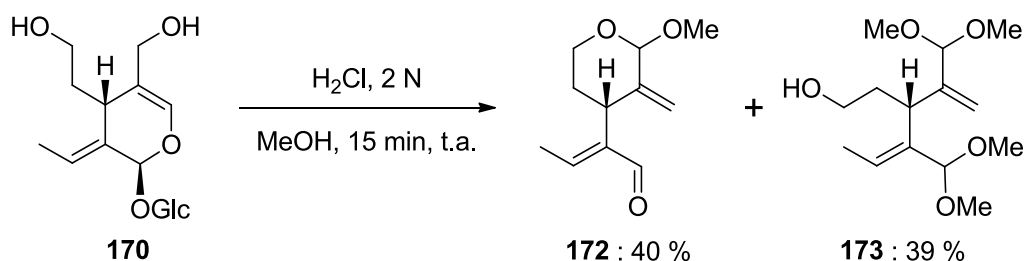
La seule réaction de réduction de l'oleuropéine (2) décrite dans la littérature, est la réduction complète de 2 en oleuropéinol (170) par le NaBH₄⁹⁹. Lorsque l'oleuropéine (2) est mise en réaction avec 22 équivalents de NaBH₄ dans l'eau, les auteurs isolent l'oleuropéinol (170) avec un rendement de 85 %.

Schéma 72 : Formation de l'oleuropéinol (**170**) par réduction de l'oleuropéine (**2**) par NaBH_4

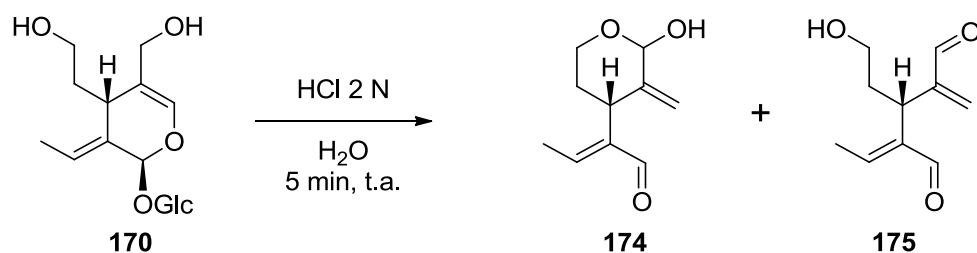
Dans cette publication Bianco et *al.* étudient la stabilité de l'oleuropéine (**2**) et de l'oleuropéinol (**170**) en conditions acides dans l'eau ou le méthanol. De cette étude il ressort que l'oleuropéine (**2**) est stable en milieu acide sur un temps moyen de 2 à 6 heures dans l'eau. Dans le méthanol, l'unité monoterpène n'est pas modifiée, mais les auteurs ont observé la transestérification de l'unité hydroxytyrosol par le méthanol qui conduit à l'oléoside diméthylester (**171**). Le composé **171** n'a pas été isolé et aucun rendement n'a été précisé par les auteurs. Cependant ces observations confirment la relative stabilité des iridoïdes substitués par un méthoxycarbonyl en milieu acide.

Schéma 73 : Transestérification de l'oleuropéine (**2**) dans le méthanol en milieu acide

Dans le cas d'iridoïdes ne possédant pas de méthoxycarbonyl α,β -insaturés comme l'oleuropéinol (**170**), les auteurs ont observé qu'un réarrangement du pyrane s'effectuait dans l'eau et le méthanol en conditions acides. Dans le méthanol, les composés **172** et **173** sont isolés avec un rendement respectif de 40 % et de 39 %.

Schéma 74 : Réarrangement de l'oleuropéinol (**170**) dans le méthanol en conditions acides

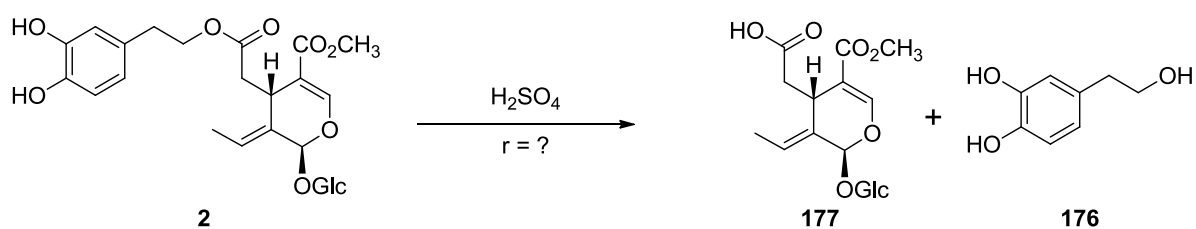
Dans l'eau, le réarrangement suit un mécanisme similaire et les composés **174** et **175** sont obtenus en un mélange inséparable dans les proportions 80/20.

Schéma 75 : Réarrangement de l'oleuropéinol (**170**) dans l'eau en conditions acides

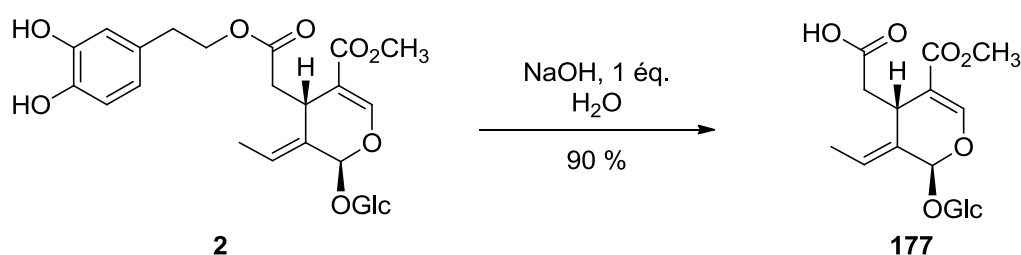
4.3.4 Hydrolyse des esters de l'oleuropéine

La plupart des publications concernant la réactivité de l'oleuropéine (**2**) sont des études qui utilisent (**2**) comme source d'hydroxytyrosol (**176**). En effet l'hydroxytyrosol est un composé antioxydant très puissant^{100,101}, ainsi qu'un anti-aggrégant plaquettaire¹⁰², c'est pourquoi de nombreuses recherches sont menées pour son extraction¹⁰³, son utilisation en pharmaceutique¹⁰⁴ et en cosmétique¹⁰³. Ainsi la principale réaction étudiée est l'hydrolyse des esters de l'oleuropéine (**2**) conduisant au 11-méthyl-oléoside (**177**) et à l'hydroxytyrosol (**176**).

L'hydrolyse peut être effectuée par l'action de l'acide sulfurique à 37°C pendant 3 heures, cependant aucun rendement n'est décrit dans ces publications^{105,106}.

Schéma 76 : Hydrolyse acide de l'ester 2,4-dihydroxypénéthylque de l'oleuropéine (**2**) en conditions acides

En 2000, Capozzi *et al.*¹⁰⁷ effectue l'hydrolyse partielle de l'oleuropéine (**2**) en 11-méthyl-oléoside (**177**) par l'action d'un équivalent de NaOH dans l'eau, cette réaction fournit après work-up 90 % du composé **177**.

Schéma 77 : Saponification de l'ester 2,4-dihydroxypénéthylque de l'oleuropéine (**2**) par la soude

Lorsque la réaction est effectuée avec deux équivalents de NaOH, les auteurs isolent l'oléoside (**24**) sans préciser le rendement.

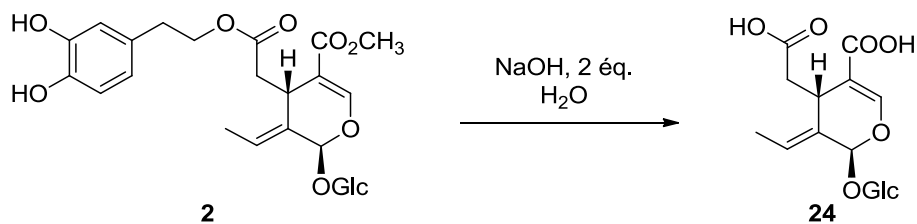
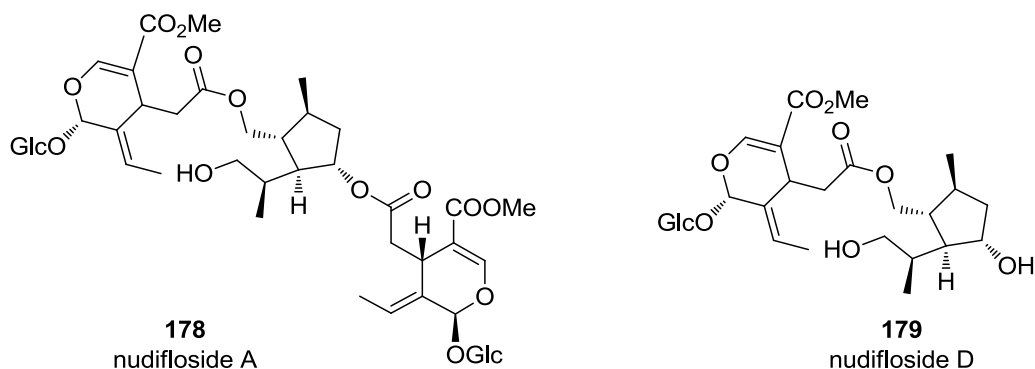


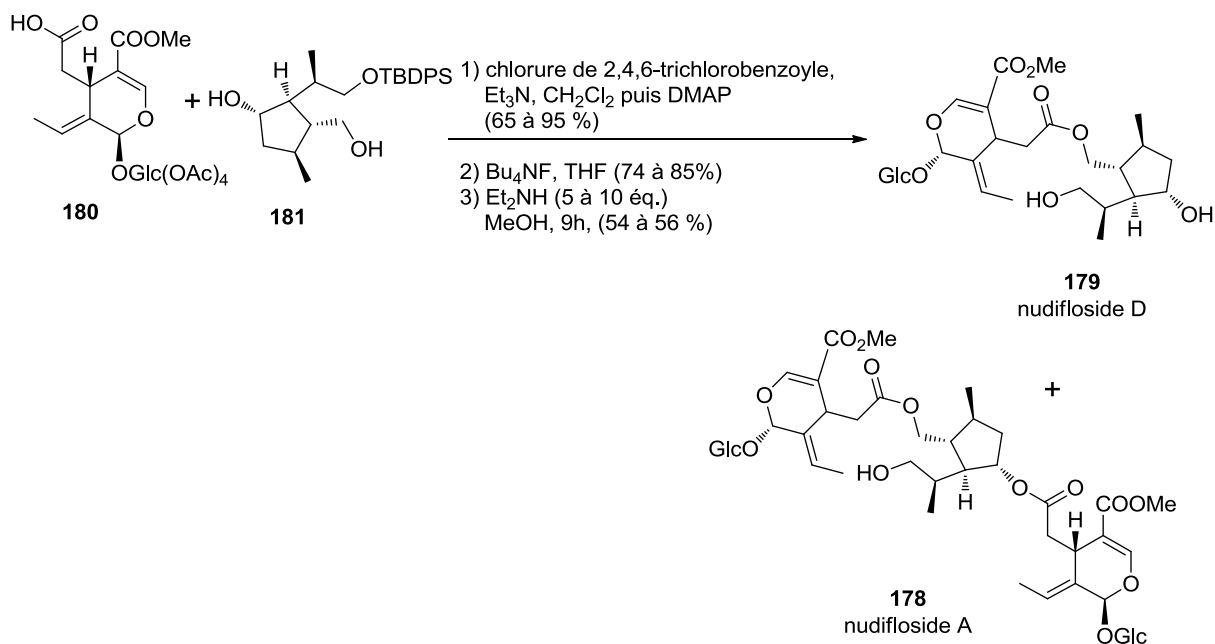
Schéma 78 : Saponification totale de l'oleuropéine (2) par la soude

4.3.5 L'oleuropéine comme matière première pour la synthèse des nudifloside A et D

Les seuls travaux qui utilisent l'oleuropéine (2) comme matière première de synthèse sont les travaux de Hanessian *et al.* en 2006¹⁰⁸ pour la synthèse de deux sécoiridoïdes naturels isolés de *Jasminium nudiflorum* LINDL (Oleaceae)¹⁰⁹ : le nudifloside A¹¹⁰ **178** et le nudifloside D¹¹¹ **179**.

Schéma 79 : Le nudifloside A (**178**) et D (**179**), sécoiridoïdes de *Jasminium nudiflorum*

Pour cette synthèse, Hanessian effectue l'estérification selon la méthode de Yamaguchi¹¹² entre le 11-méthyl-oléosideperacétate (**180**) et le composé **181**, commun au nudifloside A et D.

Schéma 80 : Synthèse des nudiflosides A (**178**) et D (**179**) à partir de **180**

Pour obtenir **180** l'équipe d'Hanessian effectue l'hydrolyse de l'ester 3,4-dihydroxyphénéthylque par l'action de 1 équivalent de NaOH dans l'eau. Ils obtiennent le composé **177** avec un rendement de 85 %. L'acétylation de **177** par l'anhydride acétique dans la pyridine permet d'obtenir le composé **182** avec un rendement de 60 %.

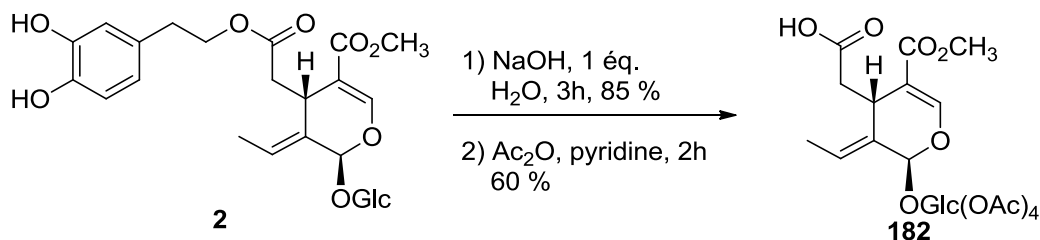


Schéma 81 : Obtention du composé **182** à partir de l'oleuropéine (**2**)

En conclusion peu d'études de la réactivité de l'oleuropéine (**2**) ont été effectuées dans une optique de synthèse avec l'oleuropéine (**2**) comme matière première. C'est pourquoi les protocoles sont assez mal décrits, cependant l'étude de Bianco *et al.*⁹⁹ permet d'avoir des données concernant la réduction de l'oleuropéine et les études de Capozzi¹⁰⁷ et Hanessian¹⁰⁸ permettent d'envisager une hydrolyse sélective de l'ester 3,4-dihydroxyphénéthylque.

*Ce chapitre introductif nous a permis de situer le contexte de la chimie des sécoiridoïdes. Bien que le sécologanoside (**3**) ait été largement utilisé comme matière première chirale pour la synthèse biomimétiques d'alcaloïdes, très peu de ses dérivés ont été utilisés. De plus la réactivité du sweroside (**4**) et de l'oleuropéine (**2**) reste encore très peu étudiée. Avant d'étudier la chimie de ces composés, nous allons maintenant voir la mise au point des méthodes d'extraction et d'isolement de ces trois matières premières.*

Chapitre 2 Extraction et isolement des matières premières

Dans ce chapitre nous allons répertorier les différentes espèces végétales capables de produire l'oleuropéine (2), le sécologanoside (3) et le sweroside (4). Nous justifierons ainsi le choix des sources végétales que nous allons utiliser et présenterons les procédés que nous avons mis au point pour extraire et purifier plusieurs grammes (de 10 g à 100 g) de ces sécoiridoïdes rapidement, efficacement et le plus durablement possible.

1. Extraction et isolement de l'oleuropéine

1.1 Introduction

1.1.1 L'oleuropéine dans *Olea europaea*

Depuis 1908, l'oleuropéine (2) a été l'objet de nombreuses études et continue d'être un sécoiridoïde d'intérêt puisque plus de 1000 études à son sujet sont recensées dans la base de données SCI-Finder. Entre 1908 et 1990 seulement 81 études sur le sujet ont été publiées, soit une moyenne d'une publication par an. De 1990 à 1997 la moyenne passe à 10 publications par an, puis le nombre de publications par an explose pour atteindre environ 100 publications par an à partir de 2009. Ce phénomène peut s'expliquer en partie par la découverte des propriétés biologiques de l'huile d'olive et de l'oleuropéine (2) ainsi que de leurs implications dans le régime méditerranéen décrites dans les années 90.

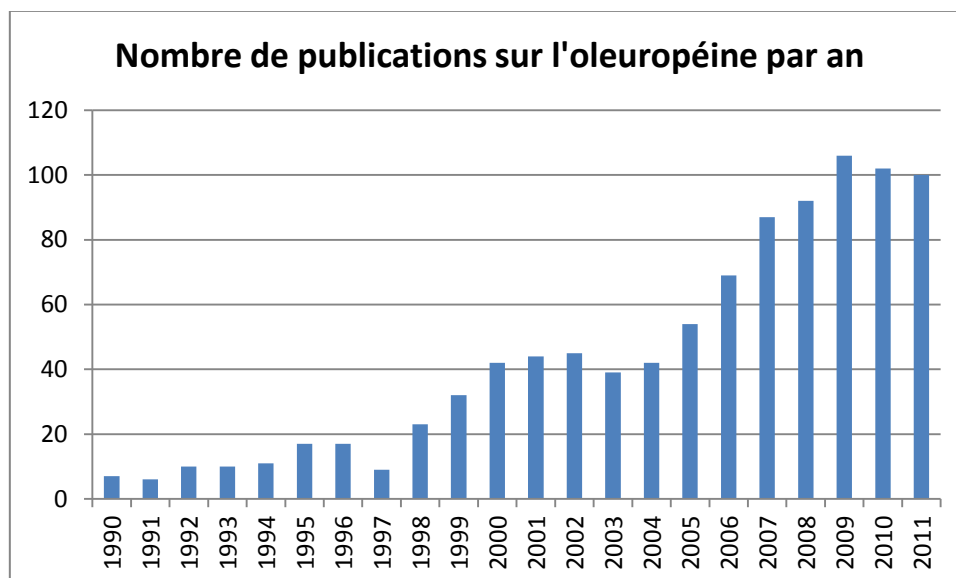


Tableau 1 : Nombre de publications sur l'oleuropéine par an depuis 1990

Actuellement, de nombreux groupes s'intéressent aux propriétés biologiques de l'oleuropéine (2)^{102,113,114} présente dans l'huile d'olive¹¹⁵⁻¹¹⁷ ou dans les extraits de feuilles^{118,119}. De nombreuses

études et brevets ont été déposés sur les techniques d'extraction de l'oleuropéine à partir des feuilles^{114,120-122}, de l'huile d'olive ou des déchets de l'industrie de l'huile d'olive¹²³. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, seulement une étude concerne son utilisation comme matière première en synthèse¹⁰⁸ pour l'hémisynthèse de deux iridoïdes. La littérature décrit clairement que les feuilles d'*Olea europaea* sont une source très riche en oleuropéine (2). Le Tutour et Guedon estiment la quantité d'oleuropéine de 60 à 90 mg par gramme de feuilles sèches⁸⁹ soit une teneur de 6 à 9 %, ce qui est très important pour un métabolite secondaire. Des études plus récentes montrent que la teneur peut monter jusqu'à 14 %^{124,125} dans les feuilles sèches. Cependant il apparaît que de la teneur dépend de nombreux facteurs comme :

- La nature des cultivars¹²⁶
- Le lieu de culture¹¹⁴
- Les conditions climatiques
- La période de récolte¹²⁶
- L'âge et la couleur des feuilles (verte, vert-jaune, jaune)¹²⁶

De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer les meilleures teneurs et conditions d'extraction permettant un rendement maximal et reproductible en oleuropéine (2). Il n'y a cependant pas de consensus à ce sujet et chaque variété présente ses avantages et inconvénients en fonction du lieu de culture¹¹⁴. On peut cependant noter que la teneur en oleuropéine (2) est généralement maximale entre mars et juillet lorsque les feuilles sont encore vertes.

1.1.2 Les autres sources d'oleuropéine

Jusqu'à présent l'oleuropéine (2) n'a été isolée que dans les plantes de la famille des Oleaceae, et plus particulièrement dans les genres *Fraxinus*, *Jasminum*, *Ligustrum*, *Osmanthus* et *Syringa*. Les teneurs en oleuropéine (2) isolée peuvent aller de 0,0003 % dans les fruits séchés de *Ligustrum lucidum* Ait. à 0,72 % dans les parties aériennes de *Osmanthus austrocaledonica*. Toutes ces teneurs sont largement inférieures à celles que l'on peut retrouver dans les feuilles d'*Olea europaea* (6-9 %⁸⁹). On peut noter qu'une étude HPLC de *Ligustrum obtusifolium* montre une teneur de 3 % d'oleuropéine dans les feuilles fraîches. Cependant aucune méthode de purification afin d'obtenir le rendement isolé n'a été décrite pour cette plante.

Plantes	Partie	Teneurs	Réf.
<i>Fraxinus americana</i> L.	feuilles sèches	0,23 %	127
<i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl	feuilles sèches	0,013 %	128
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	feuilles fraîches	0,02 %	129
<i>Fraxinus insularis</i> Hemsl.	feuilles fraîches	n.r.	130
<i>Fraxinus ornus</i> L.	écorces sèches	0,004 %	131
<i>Fraxinus oxycarpa</i> Willd.	feuilles sèches	0,0089 %	132
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance	feuilles sèches	0,021 %	133
<i>Jasminum grandiflorum</i> L.	parties aériennes sèches	0,5 %	134
<i>Jasminum officinale</i> L.	tiges et feuilles sèches	0,03 %	135
<i>Jasminum polyanthum</i> Franch.	fleurs sèches	0,48 %	136,137
<i>Ligustrum japonicum</i> Thunb.	feuilles fraîches	0,0018 %	138
<i>Ligustrum lucidum</i> Ait.	fruits séchés	0,0003 %	139
<i>Ligustrum obtusifolium</i> Siebold & Zucc.	feuilles fraîches	3 % par HPLC	140
<i>Ligustrum vulgare</i> L.	feuilles sèches	0,013 à 0,43 % par HPLC	141,142
<i>Olea europaea</i> L.	feuilles sèches	6-9 %	89
<i>Olea europaea</i> L. subsp. <i>africana</i>	écorces sèches	0,77 %	143
<i>Osmanthus asiaticus</i> Nakai	écorces sèches	n.r.	144
<i>Osmanthus austrocaledonica</i>	parties aériennes sèches	0,72 %	145
<i>Osmanthus cymosus</i> (Guillaumin) P.S. Green	feuilles sèches	0,31 %	146
<i>Osmanthus ilicifolius</i> Hort. ex Dippel	feuilles fraîches	n.r.	147
<i>Phillyrea latifolia</i> L.	feuilles sèches	0,05 %	148
<i>Phillyrea latifolia</i> L.	feuilles fraîches	0,62 %	55
<i>Syringa amurensis</i> Rupr.	écorces sèches	n.r.	149
<i>Syringa josikaea</i> J.Jacq.	feuilles fraîches	0,43 %	55
<i>Syringa reticulata</i> (Blume) H.Hara	écorces sèches	0,0005 %	150

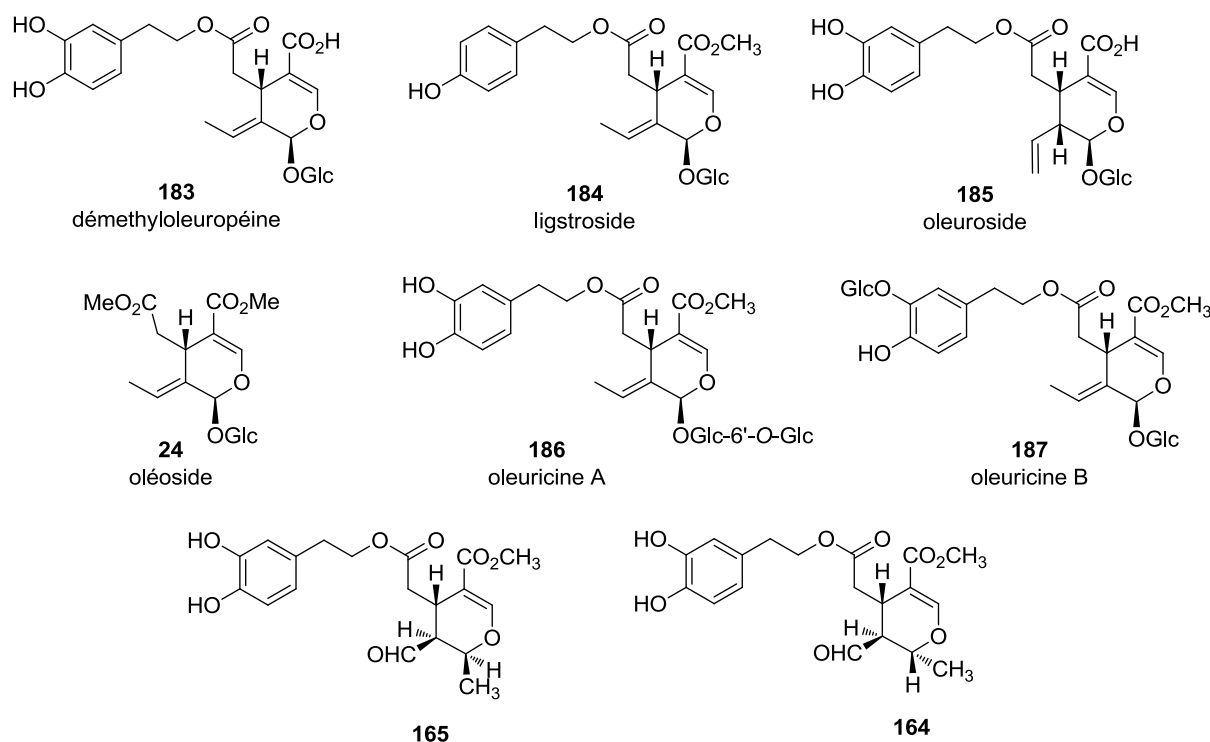
<i>Syringa velutina</i> Kom.	écorce de la tige sèche	n.r.	151
<i>Syringa vulgaris</i> L.	tiges fraîches	0,67 %	51
<i>Syringa vulgaris</i> L.	écorces sèches	n.r.	152
<i>Syringa vulgaris</i> L.	feuilles sèches	0,055 %	153

Tableau 2 : Les différentes sources d'oleuropéine (2) dans la famille des Oleacea (n.r : non renseigné)

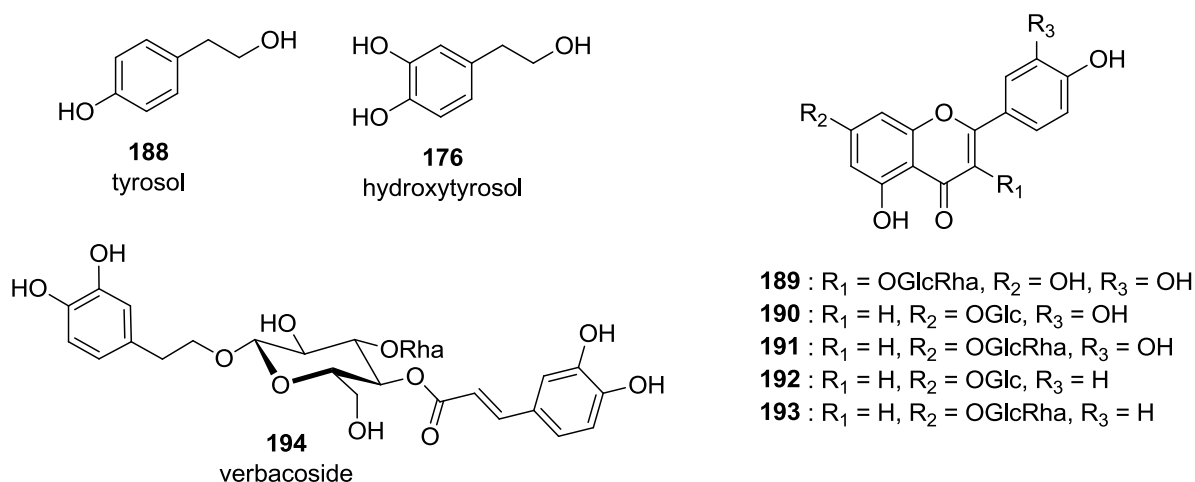
Après analyse des différentes données de la littérature, il apparaît clairement que les feuilles d'*Olea europaea* constituent la meilleure source d'oleuropéine (2). Malgré les variations de teneurs liées aux différentes variétés et aux conditions climatiques, la quantité d'oleuropéine isolable reste très élevée. De plus les feuilles d'*Olea europaea* sont généralement considérées comme un déchet de l'industrie agroalimentaire et représentent ainsi une ressource très peu valorisée et renouvelable.

1.1.3 Composition phytochimique d'*Olea europaea*

De nombreux composés ont été isolés des feuilles d'*Olea europaea* et les composés majoritaires dans les feuilles sont les sécoiridoïdes. Ainsi en plus de l'oleuropéine (2) les extraits méthanolique ou aqueux contiennent : le déméthyloleuropéine (183)²⁴, le ligstroside (184)²⁴, l'oléoside (24)²⁴, l'oleuroside (185)¹⁵⁴, l'oleuricine A (186)¹⁵⁵, l'oleuricine B (187)¹⁵⁵ et les aglycones 164 et 165²⁴.

Schéma 82 Sécoiridoïdes isolés des feuilles d'*Olea europaea*

Des composés phénoliques ont aussi été isolés : le tyrosol (188)⁸⁹, l'hydroxytyrosol (176)⁸⁹, le rutoside (189), la 7-glucosyl-lutéoline (190)⁸⁹, la 7-rutinoside-lutéoline (191)⁸⁹, la 7-glucosyl-apigénine (192)⁸⁹, la 7-rutinoside-apigénine (193)⁸⁹ et le verbacoside (194)⁸⁹.

Schéma 83 Composés phénoliques isolés d'*Olea europaea*

Ces exemples non exhaustifs de composés isolés des feuilles d'*Olea europaea* montrent bien que les extraits aqueux ou méthanolique contiennent de nombreux produits avec des polarités similaires. L'extraction et l'isolement de composés purs peuvent donc être complexes et nécessiter plusieurs étapes de purifications, comme nous allons le voir dans la partie suivante.

1.2 Techniques d'extraction

1.2.1 Bibliographie

Jusqu'au milieu des années 2000, les techniques d'extraction de l'oleuropéine (**2**) sont des techniques classiques utilisées à des fins d'études phytochimiques de différentes Oleaceae et à une échelle de laboratoire. La plupart des procédures utilisent le MeOH comme solvant d'extraction¹⁵⁶, l'extrait est alors dégraissé avec du CHCl_3 ²⁴ ou avec de l'hexane¹⁵⁷ puis la purification s'effectue par passage sur des colonnes de polymères de type HP-21¹⁵⁴ et/ou de silice.

La présence du groupement 2,4-dihydroxyphénylique dans la molécule d'oleuropéine place cette molécule dans la catégorie des phénols de l'olivier¹¹⁵. Ainsi l'intérêt industriel de ces phénols et plus particulièrement de l'oleuropéine (**2**) pour la cosmétique ou pour des nutraceutiques a nécessité depuis la seconde moitié des années 2000, la mise au point et le développement de nouveaux procédés d'extraction plus efficaces en temps et sans solvants toxiques.

Après avoir réalisé l'extraction complète de l'oleuropéine (**2**) et des composés phénoliques des feuilles à l'aide d'un mélange EtOH / H_2O : 80 / 20 en 24 h par macération, Luque de Castro *et al.* ont montré que l'extraction assistée par micro-ondes pouvait être complète après 8 min avec les mêmes rendements¹⁵⁸. L'extraction complète peut aussi être réalisée en 13 min sous pression¹⁵⁹ (140°C, 6 bars) ou en 25 min à 40°C sous ultrasons¹⁶⁰. Plus récemment, Şahin *et al.*¹⁶¹ ont effectué l'extraction par un fluide supercritique. Les auteurs utilisent le CO_2 supercritique comme solvant et ont étudié l'influence de l'addition de co-solvant, des conditions de température et de pression sur la quantité d'oleuropéine (**2**), présente dans l'extrait. Le rendement optimal d'extraction de l'oleuropéine (**2**) est

obtenu avec 20 % d'éthanol à 300 bars et à 200°C. Cette étude montre qu'il est nécessaire d'utiliser au moins 20 % d'un co-solvant polaire pour extraire l'oleuropéine (2). Bien que ces techniques diminuent considérablement le temps d'extraction et ne nécessitent pas de solvants toxiques, elles ont été effectuées sur de très petites quantités de feuilles (1 à 5 g de feuilles), l'oleuropéine n'est pas isolée et les teneurs sont rarement indiquées.

Sur une plus grande échelle (400 g de feuilles), Skaltsounis *et al.*¹⁶² ont récemment mis au point une méthode d'extraction sélective de l'oleuropéine combinant CO₂ supercritique et extraction sous pression. L'utilisation du CO₂ supercritique avec 5 % d'éthanol permet d'éliminer les substances lipophiles sans extraire l'oleuropéine (2), les feuilles sont ensuite extraites sous pression par de l'eau subcritique à 150°C. Cette technique permet l'obtention d'un extrait contenant 44,1 % d'oleuropéine (2) équivalent à un rendement de 4,6 % dans les feuilles fraîches.

Nous avons pu voir un certain nombre de méthodes d'extraction de l'oleuropéine (2) dans les feuilles d'Olea europaea, cependant la plupart de ces méthodes sont développées pour obtenir un extrait enrichi en oleuropéine (2), mais pas pour obtenir le composé isolé pur. Dans le cadre de l'utilisation de l'oleuropéine (2) comme matière première de synthèse, il est nécessaire de mettre au point une méthode qui puisse extraire plusieurs kilogrammes de feuilles pour obtenir le maximum d'oleuropéine (2) isolée. Le solvant d'extraction doit être non toxique, comme l'eau ou l'éthanol. Les étapes de purification doivent également limiter l'utilisation de solvants toxiques.

1.2.2 Travaux Personnels

Une extraction aqueuse a été choisie afin d'éviter l'utilisation de solvants polluants et toxiques comme le méthanol ou coûteux comme l'éthanol. A partir de 6,9 kg de feuilles fraîches, 180 g d'oleuropéine (2) ont été obtenus soit un rendement de 2,7 % dans les feuilles fraîches.

1.2.2.a) Pré-purification par résine XAD-4

Les résines de type XAD sont des adsorbants polymériques sous forme de petites billes blanches. Elles possèdent une surface de type aromatique qui permet la rétention des molécules aromatiques et phénoliques. Ainsi après passage de l'extrait sur la résine, les molécules possédant un noyau aromatique ou étant conjuguées sont retenues par la résine. Les sucres et autres molécules non aromatiques restent dans l'eau. L'équipe de Skaltsounis a développé un procédé d'extraction par la résine XAD16, des composés phénoliques dans les effluents aqueux de l'industrie de l'huile d'olive¹⁶³. Cette technique permet d'extraire 99,9 % des composés phénoliques dans les effluents.

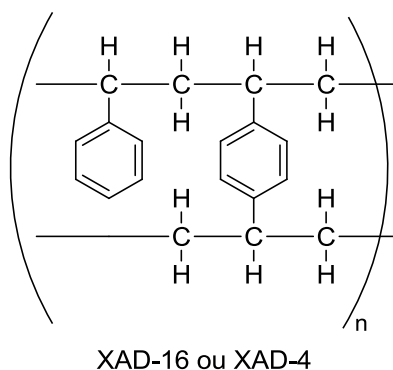


Figure 1 Structure de la résine de type XAD-16 ou XAD-4

Les résines XAD-16 et XAD-4 possèdent la même structure chimique, mais la surface spécifique et la taille des pores de la résine XAD-4 sont plus petits. Pour obtenir une plus grande sélectivité, nous avons choisi d'utiliser la résine XAD-4 pour pré-purifier l'extrait aqueux.

Les feuilles d'olivier ont été récoltées au mois d'octobre 2009 dans le jardin de la Faculté de Pharmacie de l'Université Paris Descartes. Après avoir été séparées des tiges, elles ont été pesées et directement plongées dans de l'eau à 90 °C. Après filtration, l'extrait aqueux est passé sur la résine XAD-4. La résine est ensuite éluée par un mélange H₂O / MeOH : 7 / 3 à 5 / 5 et les différentes fractions enrichies en oleuropéine (**2**) sont collectées et évaporées pour donner un extrait sec d'une masse de 314,3 g.

1.2.2.b) Purification sur silice et rendement d'extraction

Les fractions enrichies en oleuropéine (**2**) sont ensuite purifiées sur chromatographie liquide sous vide (ou C.L.V.), il s'agit d'une chromatographie sur silice très fine (6-20 µm). La silice est déposée sur un fritté de large diamètre (15 cm) permettant la purification de plus de 150 g de brut. Le brut est élué avec un mélange CH₂Cl₂/MeOH : 9 / 1 et le solvant est recyclé. Lorsque c'est nécessaire, les fractions issues de la C.L.V. sont repurifiées par chromatographie sur gel de silice classique.

Cette technique a permis d'obtenir un rendement de 2,7 % d'oleuropéine (**2**) dans les feuilles fraîches d'olivier. Cela correspond à un taux d'oleuropéine de 9 % pour un taux d'humidité de 70 % dans les feuilles. Ces valeurs correspondent à celles décrites dans la littérature⁸⁹.

1.3 Avantages de la méthode

Comparativement aux méthodes décrites dans la littérature et en fonction du cahier des charges fixé préalablement cette méthode présente plusieurs avantages :

- Utilisation d'un seul solvant d'extraction, propre et non toxique : l'eau.
- Simplification de l'extrait par une résine régénérable et réutilisable.
- Diminution de la quantité d'extrait brut à purifier sur silice grâce à la pré-purification.
- Utilisation de solvant hydro-alcoolique pour l'éluion de la résine.
- Recyclage des solvants organiques utilisé pour la chromatographie.

Nous pouvons cependant noter qu'il serait judicieux de remplacer la purification sur C.L.V. par l'utilisation de la Chromatographie Centrifuge de Partage dont nous verrons le principe dans la partie suivante^a.

1.4 Résumé du procédé d'extraction

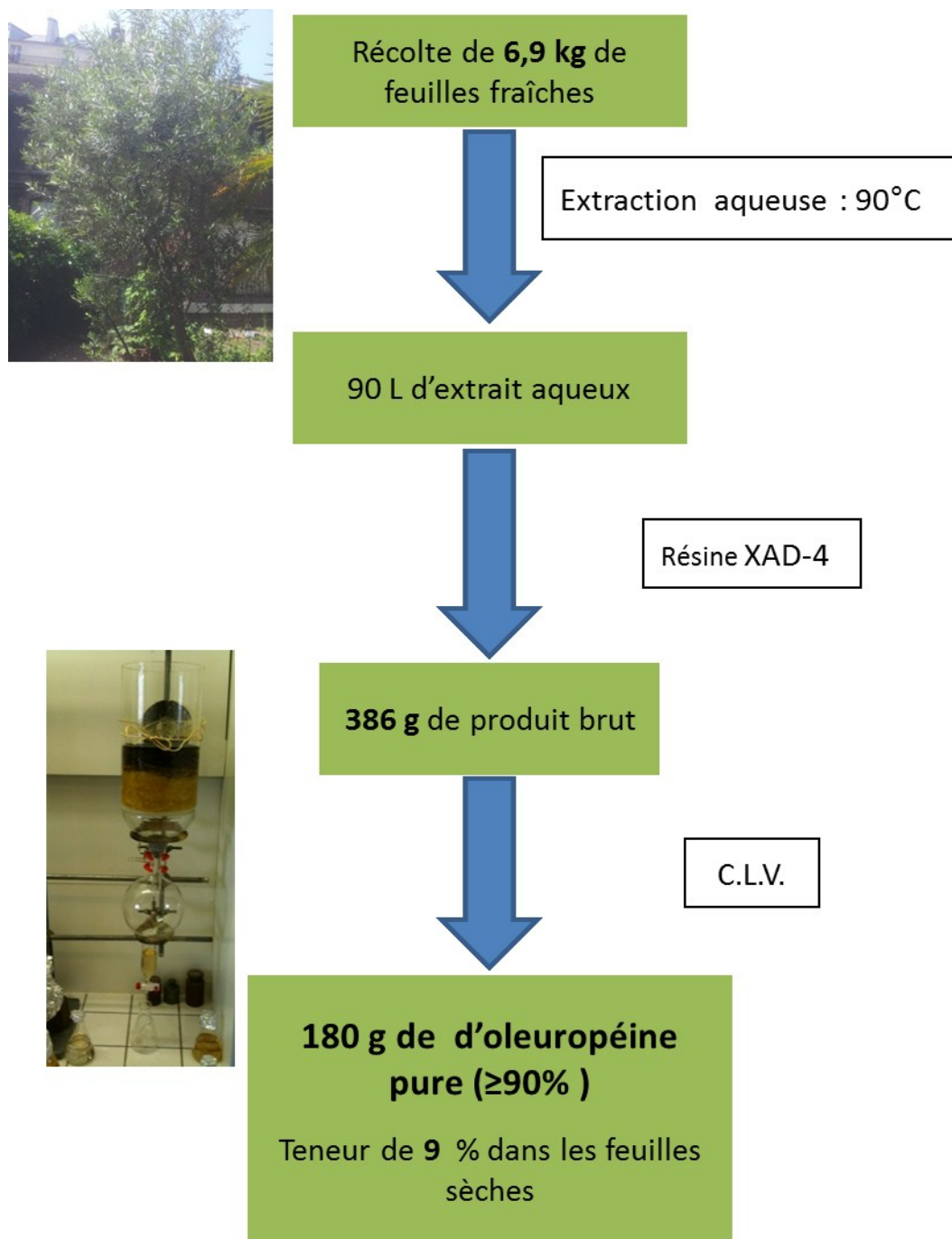


Figure 2 : Schéma d'extraction de l'oleuropéine (2)

^a Lorsque la purification de l'oleuropéine (2) a été effectuée, le laboratoire n'était pas encore équipé de CPC.

2. Procédé vert d'extraction et d'isolement du sécologanoside et du sweroside

2.1 Bibliographie et choix de la plante

2.1.1 Les sources de sécologanoside

Le sécologanoside (**3**) est présent dans plusieurs familles de plantes comme les Caprifoliaceae, les Gentianaceae, les Hydrangeaceae, les Icacinaceae, les Loasaceae, les Loganiaceae, les Rubiaceae, et les Verbenaceae. Il est surtout abondant dans les Caprifoliaceae (0,01 % à 1,7 %). Il est retrouvé en quantités plus faibles (0,01 %) dans les Rubiaceae où il est précurseur des alcaloïdes indolomonoterpéniques et présent souvent à l'état de traces dans les autres familles (0,00035 à 0,003 %).

Plante	Partie	Famille	Teneur	Réf.
<i>Lonicera chrysantha</i> Turcz	feuilles	Caprifoliaceae	n.r.	164
<i>Lonicera caerulea</i> L. var. <i>emphyllocalyx</i>	feuilles fraîches	Caprifoliaceae	0,01 %	165
<i>Lonicera japonica</i> Thunb.	boutons floraux sec	Caprifoliaceae	0,0005 %	166
<i>Lonicera japonica</i> Thunb.	feuilles fraîches	Caprifoliaceae	0,1 %	167,168
<i>Lonicera morrowii</i> A. Gray	feuilles fraîches	Caprifoliaceae	n.r.	169
<i>Lonicera periclymenum</i> L.	plante entière fraîche	Caprifoliaceae	n.r.	170
<i>Lonicera tatarica</i> L.	feuilles sèches	Caprifoliaceae	1,0 % à 1,7 %	86,171
<i>Lonicera xylosteum</i> L.	feuilles	Caprifoliaceae	n.r.	172
<i>Lonicera xylosteum</i> L.	racines	Caprifoliaceae	1,0 %	
<i>Symphoricarpos albus</i> L.	fruits frais	Caprifoliaceae	0,12 % à 0,1 7%	80,173
<i>Symphoricarpos rivularis</i> Suksd.	fruits frais	Caprifoliaceae	0,12 %	174
<i>Gentianella nitida</i> (Griseb.) Fabris	toute la plante sèche	Gentianaceae	0,012 %	175
<i>Tripterospermum chinese</i> (Migo) H. SMITH	parties aériennes sèches	Gentianaceae	0,00035 %	176
<i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser.	feuilles et tiges fraîches	Hydrangeaceae	0,023 %	177
<i>Mappianthus iodoides</i> Hand.-Mazz.	tiges sèches	Icacinaceae	0.0008%	164
<i>Mentzelia albescens</i> (Gillies & Arn.) Griseb.	toute la plante	Loasaceae	n.r.	178

Plante	Partie	Famille	Teneur	Réf.
<i>Strychnos spinosa</i> Lam.	branches sèches	Loganiaceae	0,0027 %	179
<i>Adina racemosa</i> Miq.	feuilles, fleurs et tiges sèches	Rubiaceae	0,013 %	180
<i>Guettarda speciosa</i> L.	feuilles sèches	Rubiaceae	0,013 % sous forme de diméthylacétal	181
<i>Vinca rosea</i> . Linn ou <i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don	toute la plante sèche	Rubiaceae	n.r.	50
<i>Lippia graveolen</i> Kunth	feuilles sèches	Verbenaceae	0,003 %	182

Tableau 3 : Les différentes sources de sécologanoside (3), (n.r.: non renseigné)

Ces données montrent que la source contenant le plus de sécologanoside (3) est le *Lonicera tatarica*. Cependant, comme nous allons le décrire page 64, l'extrait de feuilles de *Lonicera tatarica* contient de nombreux produits et il est difficile d'isoler le sécologanoside (3).

C'est pourquoi, l'équipe de Tietze a choisi d'utiliser les fruits frais de *Symphoricarpos rivularis*¹⁷⁴ où le sécologanoside (3) est facile à isoler même si le rendement est dix fois plus faible qu'avec le *Lonicera tatarica*. La méthode d'extraction proposée est simple. L'extrait sec est obtenu après macération à l'acétone de 40 kg de fruits frais de *Symphoricarpos rivularis*. Après plusieurs purifications sur colonnes de silice (10 à 20 kg de silice) par un mélange AcOEt / iPrOH : 3 / 1 le sécologanoside (3) est isolé avec un rendement de 0,12 % (48 g).

En 2004 Verpoorte et al.¹⁸³ calculent, par analyse HPLC, un rendement de 0,33 % de sécologanoside dans les fruits frais *Symphoricarpus albus* après extraction par ultra sonication des fruits frais (1 g) dans le méthanol. Cependant ce rendement est obtenu par mesure HPLC de l'extrait brut et aucune procédure d'isolement du sécologanoside (3) n'est décrite. Ainsi même après optimisation du procédé d'extraction, la teneur en sécologanoside (3) dans les fruits frais de *Symphoricarpus albus* (0,33 %) est plus de deux fois inférieure à la teneur dans les feuilles fraîches de *Lonicera tatarica* (0,86 %).

2.1.2 Les sources de sweroside

Le sweroside (4) est présent dans de nombreuses espèces botaniques, notamment dans la famille des Gentianaceae et des Caprifoliaceae. Il est généralement présent en quantité inférieure à 0,1 %. Cependant on le trouve en grande quantité (≈ 1 %) essentiellement dans la famille des Caprifoliaceae et plus particulièrement dans le genre *Lonicera*. Les *Lonicera* de types *tatarica* et *japonica* sont des espèces ornementales de chèvrefeuilles largement cultivés dans de nombreuses régions du monde. C'est pourquoi ils constituent les meilleures sources de sweroside (4) et comme nous l'avons vu précédemment indiqué de sécologanoside (3).

Plantes	Parties	Famille	Teneurs	Réf
<i>Alstonia glaucescens</i> (K. Schum.) Monach.	écorce de tiges	Apocynaceae	0,00027 %	184
<i>Tabernaemontana cymosa</i> (Jacq.)	graines	Apocynaceae	0,0024 %	185
<i>Tabernaemontana psorocarpa</i> (Pierre ex Stapf) Pichon	feuilles sèches	Apocynaceae	3,26 %	186
<i>Lonicera caerulea</i> (L.)	feuilles fraîches	Caprifoliaceae	0,0025 %	165
<i>Lonicera tatarica</i> (L.)	parties aériennes	Caprifoliaceae	1,0 %	86,187
<i>Lonicera japonica</i> Thunb.	boutons floraux	Caprifoliaceae	0,00012-0,038 %	166,188,189
<i>Lonicera japonica</i> Thunb.	boutons floraux	Caprifoliaceae	0,00012 %	
<i>Lonicera quinquelocularis</i> Hardw.	racines	Caprifoliaceae	0,03 %	190
<i>Alangium lamarckii</i> Thwaites	fruits	Cornaceae	0,00022 %	191
<i>Dipsacus asperoides</i> C. Y. Cheng & Ai	racines	Dipsacaceae	0,078 %	192
<i>Pterocephalus pinardii</i>	parties aériennes	Dipsacaceae	0,003 %	193
<i>Scabiosa columbaria</i> L.	racines	Dipsaceae	0,016 %	87
<i>Centaurium spicatum</i> (L.) Fernald	parties aériennes	Gentianaceae	n.r.	194
<i>Chelonanthus chelonoides</i> Gilg	toute la plante	Gentianaceae	0,01 %	195
<i>Gentiana loureirii</i>	toute la plante	Gentianaceae	0,0027 %	196
<i>Gentiana olivieri</i> Grieseb.	toute la plante	Gentianaceae	0,0253 %	197
<i>Gentiana rhodantha</i> FR.	racines	Gentianaceae	0,011 %	198
<i>Gentiana siphonantha</i> Maxim. ex Kusnezow	parties souterraines	Gentianaceae	0,012 %	199
<i>Gentiana tibetica</i> King ex Hook.f.	racines	Gentianaceae	0,0012 %	200
<i>Gentiana triflora</i> Pall.	racines et rhisomes	Gentianaceae	0,06 %	201
<i>Halenia elliptica</i> D.Don	parties aériennes	Gentianaceae	n.r.	202
<i>Swertia chirata</i> C.B.Clarke	parties aériennes	Gentianaceae	n.r.	203
<i>Swertia decora</i> Franch	parties aériennes	Gentianaceae	0,042 %	204
<i>Swertia delavayi</i> Franch	parties aériennes	Gentianaceae	0,02 %	204

Plantes	Parties	Famille	Teneurs	Réf
<i>Swertia franchetiana</i> H. Smith	toute la plante	Gentianaceae	n.r.	205
<i>Swertia japonica</i> Makino	feuilles fraîches	Gentianaceae	0,072-0,049 %	204
<i>Swertia japonica</i> Makino	parties aériennes	Gentianaceae	0,58 %	206
<i>Swertia mileensis</i> T.N. Ho & W.L. Shih	parties aériennes	Gentianaceae	0,0078 %	207
<i>Swertia pseudochinensis</i> Hara	toute la plante	Gentianaceae	0,0026 %	208
<i>Swertia pseudochinensis</i> Hara	parties aériennes	Gentianaceae	0,031 %	204
<i>Swertia punicea</i> Hemsl	parties aériennes	Gentianaceae	0,039 %	204
<i>Swertiae Herba</i>	parties aériennes	Gentianaceae	n.r.	209
<i>Tripterospermum chinense</i> (MIGO) H. SMITH	parties aériennes	Gentianaceae	0,018 %	176
<i>Tripterospermum japonicum</i> (Sieb. et Zucc.) Maxim	parties aériennes	Gentianaceae	0,0035 %	210
<i>Hydrangea macrophylla</i> ser. var. <i>macrophylla</i> (Thunb.) Ser.	n.r.	Hydrangeaceae	0,00003 %	177
<i>Caiophora sepiaria</i> (G.Don) J.F.Macbr.	parties aériennes	Loasaceae	0,12 %	211
<i>Eucnide bartonioides</i> Zucc.	parties aériennes	Loasaceae	0,007 %	212
<i>Anthocleista djalensis</i> A. Chev.	toute la plante	Loganiaceae	n.r.	213
<i>Fagraea auriculata</i> Jack	écorce des tiges	Loganiaceae	9% dans l'extract methanolique	214
<i>Fagraea gracilipes</i> A. Gray	bois	Loganiaceae	0,18 %	215
<i>Potalia amara</i> Aubl.	écorce des tiges	Loganiaceae	n.r.	216
<i>Strychnos axillaris</i> Colebr.	écorce et bois	Loganiaceae	0,0035 %	217
<i>Strychnos spinosa</i> Lam.	branches	Loganiaceae	0,086 %	179
<i>Ophiorrhiza japonica</i> Blume	feuilles sèches	Rubiaceae	0,014 %	181
<i>Adina racemosa</i> (Sieb. et Zucc.) Miq.	parties aériennes	Rubiaceae	0,019 %	180
<i>Chione venosa</i> (sw.) Urban var. <i>venosa</i>	n.r	Rubiaceae	0,004 %	218
<i>Mitragyna africanus</i> Willd.	écorce des tiges	Rubiaceae	0,035 %	219

Plantes	Parties	Famille	Teneurs	Réf
<i>Neonauclea sessilifolia</i> Merr.	racines	Rubiaceae	0,033 %	220
<i>Ophiorrhiza liukiensis</i> Hayata	toute la plante	Rubiaceae	0,014 %	221
<i>Hydrangea chinensis</i> Maxim.	feuilles	Saxifragaceae	0,003 %	222

Tableau 4 : Les différentes sources de sweroside (4), (n.r. : non renseigné)

2.1.3 Choix du *Lonicera tatarica* comme source de sécologanoside et de sweroside

Comme nous avons pu le voir le *Lonicera tatarica* est la plante qui possède les teneurs en sécologanoside (3) et en sweroside (4) les plus élevées. De plus les teneurs en sécologanoside (3) et en sweroside (4) sont du même ordre ($\approx 1\%$), ce qui permet l'obtention de deux matières premières chirales en grandes quantités à partir d'une même source végétale.

Cette plante ornementale est facilement cultivable sous un climat tempéré et il existe de nombreux parcs publics qui la cultivent et qui effectue des tailles annuelles. Il y a ainsi la possibilité de récolter ses feuilles en grandes quantités et sans impacts négatifs pour son développement.

Bien que la présence de sécologanoside (3) et de sweroside (4) dans les feuilles ait été décrite, aucune étude phytochimique approfondie de cette plante n'a été effectuée. C'est pourquoi parallèlement à la mise au point d'un procédé vert d'extraction et de purification du sécologanoside (3) et du sweroside (4), nous nous sommes également intéressé à l'étude des tiges qui n'ont pas fait l'objet de travaux phytochimiques.

Une douzaine de plants de *Lonicera tatarica* ont été plantés en au printemps 2008 dans le jardin botanique de la Faculté de Pharmacie par M. Michel.

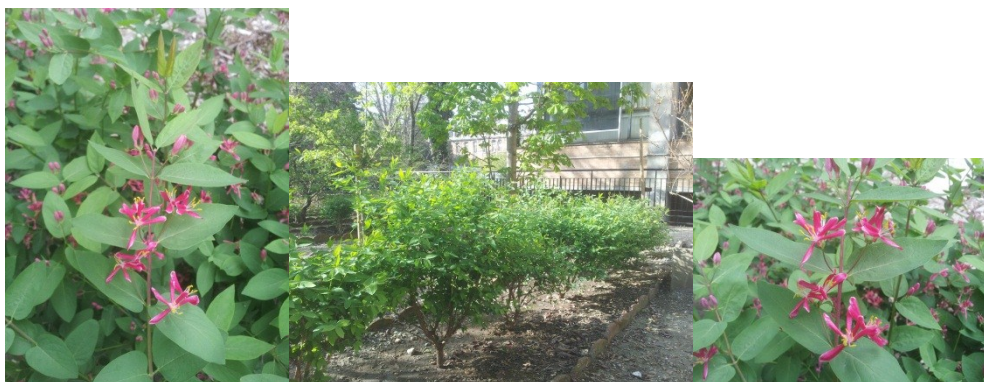


Figure 3 : Plantation de *Lonicera tatarica* à la Faculté de Pharmacie

Ces plants ont atteint une maturité suffisante pour être taillés en Juin 2010, les feuilles ainsi récoltées ont été extraites selon deux méthodes que nous allons décrire ci-après.

2.2 Technique d'extraction et d'isolement

2.2.1 Les différentes techniques d'extraction et d'isolement

En 1976, Tietze *et al.* publient l'extraction de 21,5 g sécologanoside à partir de 2,5 kg de feuilles fraîches de *Lonicera tatarica*¹⁷¹ (1,7 % ramené au feuilles sèches et 0,86 % à partir des feuilles fraîches). Cependant le procédé est long et fastidieux, après trois extractions au méthanol chaud (60°C), le milieu est filtré et neutralisé par l'ajout de NaHCO₃. L'extrait est ensuite évaporé jusqu'à 500 mL à 40°C. Il est ensuite lavé par de l'éther, la phase organique est extraite plusieurs fois à l'eau puis les phases aqueuses sont réunies et évaporées. Le résidu est redissous dans l'acétone et les insolubles sont filtrés. Après évaporation, le résidu est chromatographié sur gel de silice avec un mélange acétone / benzène : 5 / 2.

Ce procédé n'est pas adapté à nos objectifs de procédés verts, en effet il nécessite de nombreuses manipulations et l'utilisation d'une grande quantité de solvants toxiques (MeOH, Et₂O, et surtout benzène). De plus ce procédé est essentiellement focalisé sur l'isolement du sécologanoside (3) alors que nous souhaitons aussi purifier le sweroside (4).

En 1981, McLean *et al.*¹⁸⁷ utilisent le *Lonicera tatarica* comme source de sécologanoside (3) et de sweroside (4) sans préciser la méthode d'extraction utilisée.

Enfin, en 2006, l'équipe d'O'Connor modifie la méthode de Tietze sur une échelle de 100 g de feuilles sèches⁸⁶. Les auteurs effectuent directement la pré-purification de l'extrait méthanolique sur colonne chromatographique sur gel de silice (CH₂Cl₂ / MeOH : 9 / 1). La purification finale, effectuée sur une colonne chromatographique en C18 (H₂O / MeOH : 7 / 3) permet l'isolement de 1 g de sécologanoside (3). Bien que cette méthode soit plus simple, elle nécessite l'utilisation d'un solvant d'extraction toxique et une purification sur silice greffée C18, toxique et coûteuse à grande échelle.

C'est pourquoi nous avons mis au point un procédé simplifié qui permet d'isoler rapidement le sécologanoside (3) et le sweroside (4). Pour cela nous avons recherché des conditions qui minimisent le temps nécessaire pour la purification, qui évitent ou limitent l'emploi de la silice et l'utilisation de solvants toxiques.

2.2.2 Travaux personnels

2.2.2.a) Test préliminaires

Afin de réduire le nombre de manipulations nécessaires pour traiter une grande quantité de matière végétale, l'extraction est effectuée avec un solvant unique et non polluant: l'eau. Nous avons d'abord effectué une extraction sur une petite quantité (10 g) de feuilles fraîches et sèches (séchées pendant 30 jours à 20 °C) ainsi que sur les tiges fraîches et sèches afin d'obtenir les profils CCM de chaque extrait. Il apparaît que le profil CCM de l'extrait des feuilles fraîches est identique au profil de l'extrait

des feuilles sèches. De même, le profil CCM de l'extrait des tiges sèches est semblable au profil des tiges fraîches. Il semble donc que les sécoiridoïdes présents dans la plante sont stables dans la plante pendant au moins 30 jours.

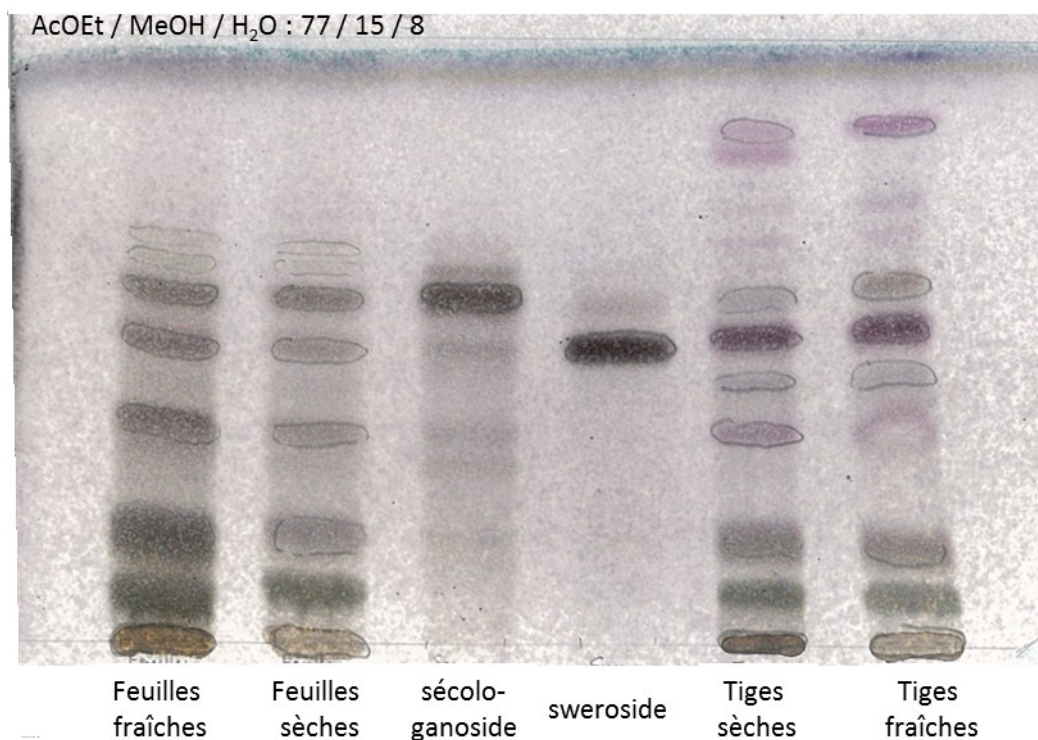


Figure 4 CCM des extraits aqueux des feuilles et des tiges du *Lonicera tatarica*

(éluant : AcOEt / MeOH / H₂O : 77 / 15 / 8)

Nous pouvons donc travailler avec du matériel frais ou sec sans risque d'obtenir des artefacts issus de la dégradation.

2.2.2.b) Mise au point d'une technique simplifiée d'extraction

Pour l'extraction sur une grande quantité, nous avons choisi d'utiliser directement les feuilles fraîches. Ainsi les feuilles fraîches (2,9 kg) sont plongées dans 40 L d'eau à 95°C directement après la récolte. Les feuilles macèrent environ 4 h à cette température puis pendant 16 h à température ambiante. L'extraction est effectuée trois fois de suite jusqu'à épuisement des feuilles. L'utilisation de l'eau chaude présente plusieurs avantages :

- Pas d'utilisation de solvants organiques
- Inhibition par la température de l'activité enzymatique qui hydrolyse les glucosides d'iridoïdes.
- Possibilité d'extraire plusieurs dizaines de kilogrammes de feuilles en un « batch ».
- Aucune extraction des chlorophylles.

L'extrait obtenu après filtration (120 L) est évaporé à 60°C sous vide puis lyophilisé. La masse de l'extrait sec est de 500 g soit un rendement d'extraction de 17,2 % à partir des feuilles fraîches. L'humidité des feuilles fraîches est de 62 % et a été mesurée par gravimétrie. Ainsi la masse de l'extrait sec (500 g) représente environ 45 % de la masse de feuilles sèches (1,1 kg).

2.2.2.c) Purification et rendement d'extraction

L'extrait brut lyophilisé est purifié par C.L.V., environ 150 g de brut peuvent être pré-purifiés en une fois. Pour purifier les 500 g d'extrait sec, trois C.L.V doivent être effectuées, nécessitant l'utilisation d'environ 100 L d'éluant de type CH_2Cl_2 / MeOH : 80 / 20 et une dizaine de kg de silice. Le solvant utilisé (30 L) est recyclé par évaporation sous vide. Après les C.L.V. les fractions enrichies en sécologanoside (**3**) et en sweroside (**4**) sont de nouveau purifiées sur colonne chromatographique sur gel de silice. Il faut parfois trois à quatre colonnes pour séparer le sécologanoside (**3**) du sweroside (**4**). Ces opérations nécessitent un à deux mois de manipulations en fonction de l'opérateur pour purifier les 500 grammes d'extrait.

A l'issue de ces étapes de purification sont obtenus :

- 13,6 g de sécologanoside (**3**) avec un rendement de 0,47 % dans les feuilles fraîches soit 1,3 % dans les feuilles sèches.
- 12,8 g de sweroside (**4**) avec un rendement de 0,44 % dans les feuilles fraîches soit 1,2 % dans les feuilles sèches.

Ces rendements correspondent aux valeurs observées dans la littérature^{171,187} mais sont plus faibles que celles obtenues par Tietze en 1976 (1,7%).

2.2.2.d) Résumé du procédé d'extraction classique

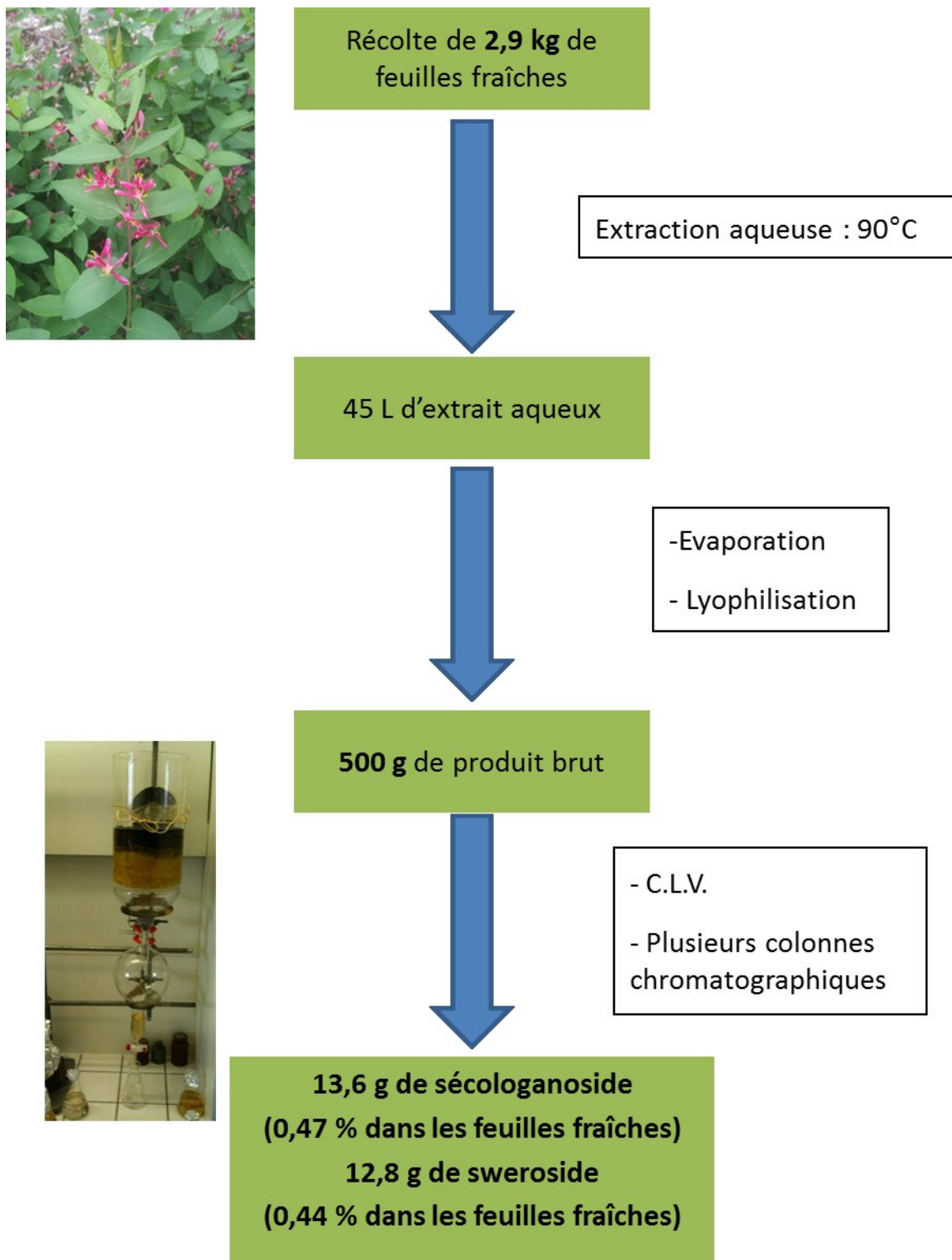


Figure 5 : Schéma d'extraction classique du sécologanoside (3) et du sweroside (4)

2.3 Optimisation de l'extraction et de la purification

Le procédé précédemment décrit présente de nombreux inconvénients en termes de pollution et d'énergie :

- L'évaporation de dizaines de litre d'eau nécessite beaucoup d'énergie et de temps. C'est pourquoi il est nécessaire de diminuer les quantités de solvant d'extraction.
- La purification des composés nécessite plusieurs dizaines de litres de solvant toxiques (CH_2Cl_2 et MeOH) et plusieurs kilogrammes de silice. C'est pourquoi il est nécessaire de mettre au point une technique de purification sans solvants toxiques et sans silice.

Dans cette partie nous allons décrire les efforts accomplis afin de limiter l'impact environnemental et énergétique du procédé d'extraction classique en utilisant des techniques efficaces d'extraction et de purification.

2.3.1 Extraction sous pression

Afin de limiter la quantité de solvant d'extraction, nous avons envisagé d'utiliser un système d'extraction sous pression. Après avoir décrit l'appareillage, nous comparerons cette technique avec l'extraction classique par macération.

2.3.1.a) Description de la technique et de l'appareillage

L'extraction liquide sous pression (ELP et PLE pour Pressurized Liquid Extraction en anglais) est une technique qui utilise un solvant liquide à haute pression et à haute température, ce qui augmente les performances d'extractions. Le premier appareil permettant d'utiliser cette technologie fut introduit sur le marché par Dionex sous le nom de ASE® (Accelerated Solvent Extraction Technology) en 1995²²³. L'appareil que nous avons utilisé a été développé par Büchi, et permet l'extraction de 4 matrices différentes d'un volume de 125 mL en parallèle et peut travailler sur une gamme de température de 30 °C à 150 °C et sur une gamme de pression de 50 à 150 bars. Ces systèmes permettent de limiter drastiquement la quantité de solvant utilisée et surtout le temps d'extraction. En effet un cycle d'extraction dure entre 5 et 15 min. A la fin des cycles d'extractions le solvant résiduel est purgé par un gaz inerte. Sous pression, il est possible de travailler à une température supérieure au point d'ébullition du solvant. Dans ces conditions, la constante diélectrique, la tension de surface et la viscosité du solvant diminuent ce qui permet ainsi une meilleure diffusion du solvant au sein de la matrice²²⁴⁻²²⁶. Cette technologie permet d'extraire rapidement des composés sensibles en évitant leur dégradation et est adaptée aux composés polaires comme les iridoïdes. C'est pourquoi nous avons effectué des tests d'extraction des feuilles et des tiges du *Lonicera tatarica* par cette technique.



Figure 6 : Appareil d'extraction sous pression, Büchi Speed Extractor E-914

2.3.1.b) Extraction sous pression des feuilles de *Lonicera tatarica*

La méthode utilisée pour l'extraction sous pression est la suivante :

- Chauffage à 90°C en 2 min
- Mise sous pression à 100 bars par ajout du solvant en 5 min
- Maintien de la pression pendant 10 min
- Vidange de la cellule par flux d'azote

Ce cycle est répété deux fois de suite et nécessite environ 1 h 30 au total.

Les feuilles fraîches sont préalablement cryogénisées et contusées afin d'augmenter la quantité de feuilles dans une cellule d'extraction. Ainsi 65,4 g de feuilles fraîches peuvent être extraites dans une cellule, un extrait d'environ 80 mL est récupéré, pour donner après lyophilisation, 11,51 g d'extrait sec soit un rendement d'extraction de 17,6 %. Ce rendement d'extraction est comparable à celui obtenu par la méthode classique (17,2%).

2.3.1.c) Comparaison avec l'utilisation d'un extracteur classique

Les deux paramètres critiques concernant l'extraction sont la quantité de solvant utilisée et le temps d'extraction.

Pour l'extraction des feuilles de *Lonicera tatarica*, la quantité d'eau nécessaire pour épuiser la plante est de :

- 41 mL/g de feuilles soit 41 L/kg de feuilles, en méthode classique
- 1,3 mL/g de feuilles soit 1,3 L/kg de feuilles en extraction sous pression

L'extraction classique nécessite donc 40 fois plus de solvant que l'extraction sous pression.

En terme de temps, l'extraction classique dure environ 3 jours pour effectuer trois cycles de macération / filtration alors qu'il faut moins de 2 h avec l'appareil sous pression. En revanche le temps d'extraction classique reste constant quel que soit la quantité de feuilles à extraire (100 g à 10 kg), alors que l'extracteur sous pression est limité en capacité (400 g de feuilles dans les 4 cellules). Le véritable gain de temps est réalisé lors de l'évaporation de solvant dont la quantité est 20 fois plus faible avec l'extraction sous pression.

Ainsi pour une extraction sur plusieurs kilogrammes de feuilles, la méthode d'extraction par macération dans l'eau chaude, est la plus économique en temps de manipulation. Comme le solvant utilisé est bon marché et non polluant c'est la méthode classique de macération qui correspond le mieux à nos objectifs.

Une fois les feuilles extraites, il est nécessaire de purifier l'extrait, afin de limiter l'emploi de silice et de solvants toxiques, nous avons choisi de mettre au point une méthode de séparation à partir de la Chromatographie de Partition Centrifuge (CPC).

2.3.2 Séparation par CPC

2.3.2.a) Description de la technique et de l'appareil

La Chromatographie de Partition Centrifuge est un procédé de chromatographie qui utilise un système liquide-liquide biphasique sans support solide pour maintenir la phase stationnaire. L'appareil, développé en 1982 par la compagnie Sanki Engineering²²⁷, est constitué d'un ensemble de cellules de quelques mL reliées entre elles et disposées en cercle sur un disque autour d'un rotor mono-axe.



Figure 7 : Armen Spot CPC (1L / 250 mL) et représentation schématique des cellules dans le rotor (Grégoire Audo, Armen Instrument)

Grâce à la force centrifuge exercée par la rotation du rotor, la phase stationnaire est retenue sur la partie extérieure de la cellule. La pompe permet de faire passer la phase mobile à travers la phase stationnaire, permettant l'échange entre les deux phases. Lorsque la phase inférieure (souvent la phase aqueuse) est la phase stationnaire, la phase mobile (souvent la phase organique) est pompée en mode ascendant dans la cellule. Inversement lorsque la phase supérieure est la phase stationnaire, la phase mobile est pompée en mode descendant. Cela permet de faire varier la phase mobile en fonction des composés à séparer. Les appareils disponibles sur le marché sont notamment commercialisés par Sanki Ing. (Japon), P.C. Inc. (USA), Pharmatec (USA), Kromaton (France) et Armen Instruments (France).

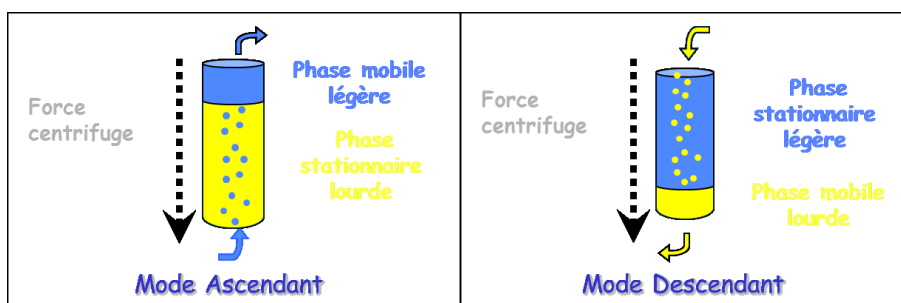


Figure 8 : Représentation schématique d'une cellule en mode ascendant et descendant (Grégoire Audo, Armen Instruments)

Au niveau de la séparation dans la colonne, les composés présents initialement dans la phase mobile, vont être retenus par la phase stationnaire en fonction de leur coefficient de partage entre les deux phases. Le coefficient de partage K_d , s'exprime comme le rapport de la concentration en composé A dans la phase stationnaire sur la concentration de A dans la phase mobile.

$$K_D = \frac{[A]_{stat}}{[A]_{mob}}$$

A partir du K_d , il est possible de définir le volume de rétention du composé A (V_r) comme la somme du volume de phase mobile à l'équilibre (V_m) et le volume de la phase stationnaire (V_s) à l'équilibre fois le K_d .

$$V_r = V_m + K_D \cdot V_s$$

Ainsi pour un $K_d = 1$, le volume de rétention est égal au volume de la colonne. La différence de K_d entre les différents composés permet d'avoir des volumes de rétention différents et par là même une séparation des produits.

L'utilisation de la CPC s'est accélérée à partir de la fin des années 90, grâce au développement des appareils mais aussi grâce à la mise au point de systèmes solvants couvrant une large gamme de polarité. Ainsi Magraff²²⁸ mis au point 23 systèmes de solvants quaternaires de type Heptane / EtOAc / MeOH / Eau qu'il classa de A à Z (excepté E, I, O). Ce système AZ devint rapidement connu sous de nom de système ARIZONA²²⁹ en référence au code postal de l'état américain du même nom. En 2005, Berthod²³⁰ effectue une étude de la composition en solvant de chacune des phases du mélange biphasique. De plus, il remplace l'heptane par des solvants couramment utilisés comme l'hexane, le cyclohexane et l'isooctane et il évalue l'influence de changement sur la composition des phases. Ces travaux permettent de faciliter le choix du solvant pour la séparation de produits par CPC. Enfin, il est possible d'effectuer des gradients de solvants afin d'améliorer la séparation des composés. Cette méthode essentiellement empirique, commence à être rationalisée²³¹ afin de corréler le profil d'élution du gradient avec le coefficient de partage K_d . Cette étude effectuée en 2011 a permis de montrer que la rationalisation est possible mais qu'il est nécessaire de perfectionner et d'affiner ces résultats pour qu'ils deviennent un outil efficace.

➤ Séparation de produits naturels

Grâce à la large gamme de polarité couverte par le système ARIZONA, et grâce à des propriétés séparatives différentes de l'HPLC ou de la chromatographie liquide sur gel de silice, la CPC a permis l'isolement de nombreux produits naturels^{232,233}. Une revue récente de 2010²³⁴, décrit la purification de plus de 250 produits naturels issus de 60 plantes et microorganismes entre 1994 et 2009. Parmi les composés purifiés, on trouve des polyphénols, des lignanes, des coumarines, des anthocyanes, des flavonoïdes, des xanthones, des terpènes (mono-, di- et tri-), des saponinosides, des alcaloïdes, des antibiotiques, des stéroïdes et des polysaccharides.

Ce qui nous intéresse plus particulièrement est la séparation des iridoïdes par CPC. Une recherche attentive de la littérature montre qu'il n'y a que trois exemples de séparation d'iridoïdes par CPC et un seul exemple de séparation de sécoiridoïdes. Concernant la séparation de sécoiridoïdes, c'est en 1997, que Shen et Hsieh²³⁵ effectuent une pré-purification d'un extrait de *Jasminum urophyllum* avec un système CHCl₃ / MeOH / H₂O : 43 / 37 / 20. La première étude concernant la séparation d'iridoïdes par CPC a été effectuée en 2005 par Leitao *et al.*²³⁶, les auteurs utilisent un gradient d'un système de type EtOAc / *n*-BuOH / H₂O pour isoler des iridoïdes (martinoside, isoverbacoside, verbacoside et ipolamiide) de l'extrait des racines de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl. Puis en 2007, Kim²³⁷ isole le geniposide de l'extrait de fruits de *Gardenia jasminoides* J. Ellis (Rubiaceae). A partir de 500 mg d'extrait, les auteurs isolent 56 mg de geniposide avec un système biphasique AcOEt / *i*-PrOH / H₂O : 6 / 4 / 10. Plus récemment Chen *et al.*²³⁸ isolent le Picroside I, II et III, des fruits de *Picrorhiza scrophulariiflora* avec un système *n*-hexane / EtOAc / MeOH / H₂O : 1 / 2 / 1 / 2 avec une technique d'élution-extrusion sur une échelle de 300 mg.

2.3.2.b) Mise au point d'une méthode de séparation par CPC

Différents systèmes biphasiques ont été évalués, les iridoïdes étant des composés très polaires, il est nécessaire de choisir un système qui permet leur dissolution. Quelque soit le système de solvant d'ARIZONA utilisé, les conditions pour une bonne séparation ($K_d \approx 1$) ne sont pas remplies. En 1987 Verpoorte et Kim effectuent la purification du sécologanoside extrait du *Lonicera tatarica* en utilisant la chromatographie de rotation loculaire à contre-courant (RLCC) ancêtre de la CPC. La meilleure séparation est obtenue avec un système de solvant AcOEt / *n*-PrOH / H₂O : 4 / 2 / 7 en mode ascendant. En se basant sur ces résultats, nous avons orienté notre choix sur un système de type AcOEt / alcool / eau pour plusieurs raisons^{237,239} : d'une part la grande polarité du mélange et d'autre part sa faible toxicité. En effet l'acétate d'éthyle est un solvant peu toxique et autorisé dans l'industrie pharmaceutique. Pour le choix de l'alcool, il doit être peu miscible à l'eau. Le butanol ainsi que le *n*-propanol ont été utilisés. Les systèmes ont été testés en mode ascendant, en isocratique et en mode gradient. Nous avons testé les mélanges de solvants suivants :

- AcOEt / *n*-BuOH / H₂O : 1 / 4 / 5, ascendant, isocratique
- AcOEt / *n*-BuOH / H₂O : 1 / 0 / 1 à 0 / 1 / 1 ascendant, gradient (en 1h)
- AcOEt / *n*-PrOH / H₂O : 6 / 4 / 10 ascendant, isocratique
- AcOEt / *n*-PrOH / H₂O : 1 / 0 / 1 à 6 / 4 / 10 ascendant, gradient (en 40 min)

*Le meilleur système de solvant est le mélange AcOEt / *n*-PrOH / H₂O : 6 / 4 / 10 en mode gradient. Ce système permet une meilleure séparation qu'avec le *n*-butanol. De plus le point d'ébullition du *n*-propanol est légèrement plus faible (97-98°C) que celui du *n*-butanol (117 °C) ce qui facilite l'évaporation.*

Ainsi 30 g d'extrait brut peuvent être purifiés sur un rotor de 1 L avec gradient d'un système AcOEt / *n*-PrOH / H₂O : 1 / 0 / 1 à AcOEt / *n*-PrOH / H₂O : 7 / 3 / 10 en 40 min. Ce procédé nécessite 4 volumes de colonne pour la purification du sécologanoside (**3**) et du sweroside (**4**), en 4 heures. Les quantités obtenues correspondent à la teneur attendue :

- Sécologanoside : 858 mg, soit 1,3 % dans les feuilles sèches.
- Sweroside : 618 mg soit 0,9 % dans les feuilles sèches.

2.3.2.c) Analyses HPLC de l'extrait et des fractions obtenues par CPC

L'extrait brut de feuilles a été analysé par HPLC sur une colonne C18, la phase mobile est constituée d'une solution de H₃PO₄ à 0.1M et d'acétonitrile. La méthode utilisée est la suivante : A : H₃PO₄ 0.1M, B : ACN : 10 % 0-10 min, 10 % -20 % 10-25 min, 20 % 25 - 35 min, 10 % 35-40 min. Les produits sont détectés par UV à 235 nm. Cette longueur d'onde correspond aux maxima d'absorption du sécologanoside (**3**) et du sweroside (**4**). L'ensemble des produits UV-sensibles contenus dans l'extrait sont analysés en 40 min. Les mêmes conditions ont été utilisées pour analyser les différentes fractions collectées à la sortie de la CPC.

Dans l'extrait, huit produits majoritaires sont observés, nous avons cependant choisi un système de purification qui permet la séparation des produits d'intérêts que sont le sécologanoside (3), le sweroside (4).

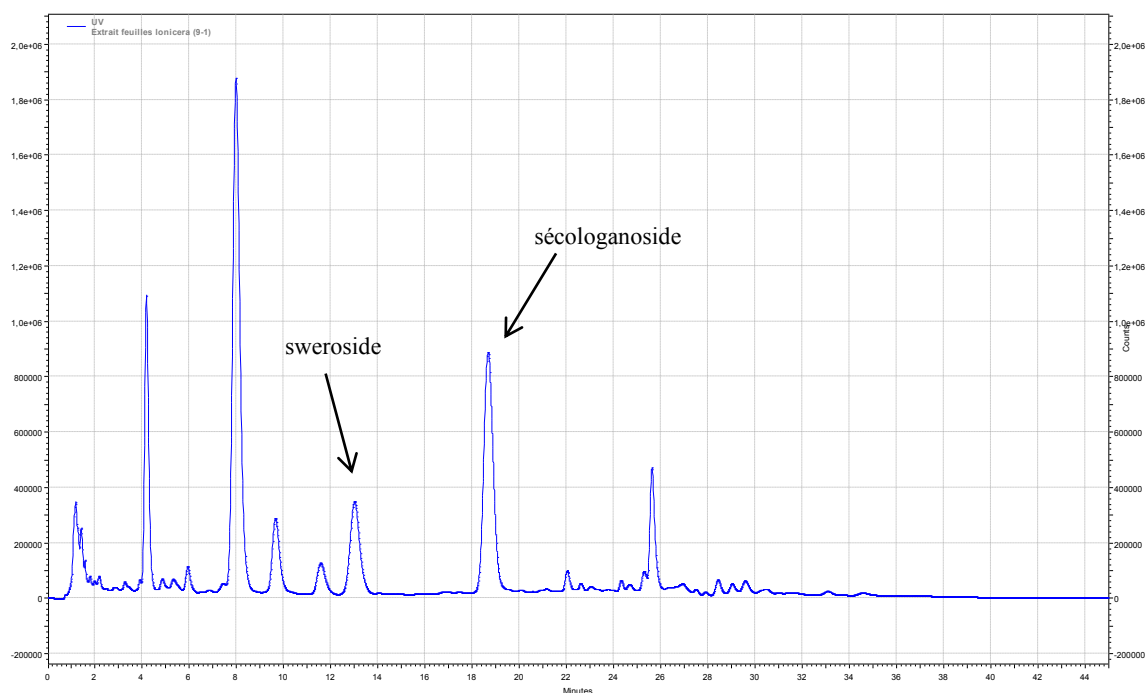


Figure 9 : Profil HPLC de l'extrait de feuilles de *Lonicera tatarica* obtenu par macération

Les chromatogrammes du sécologanoside (3) et du sweroside (4) montrent quelques impuretés mineures. Ces impuretés représentent moins de 10 % en RMN du proton. Les produits ainsi obtenus sont suffisamment purs pour être utilisés en synthèse. Par comparaison nous avons effectué les HPLC du sécologanoside (3) et du sweroside (4) obtenus après plusieurs purifications sur colonne chromatographique de silice. Nous pouvons constater que le gain de temps d'une purification sur CPC par rapport à plusieurs colonnes est considérable (1 jour contre au moins une semaine). La différence de pureté entre les deux méthodes est en revanche assez faible.

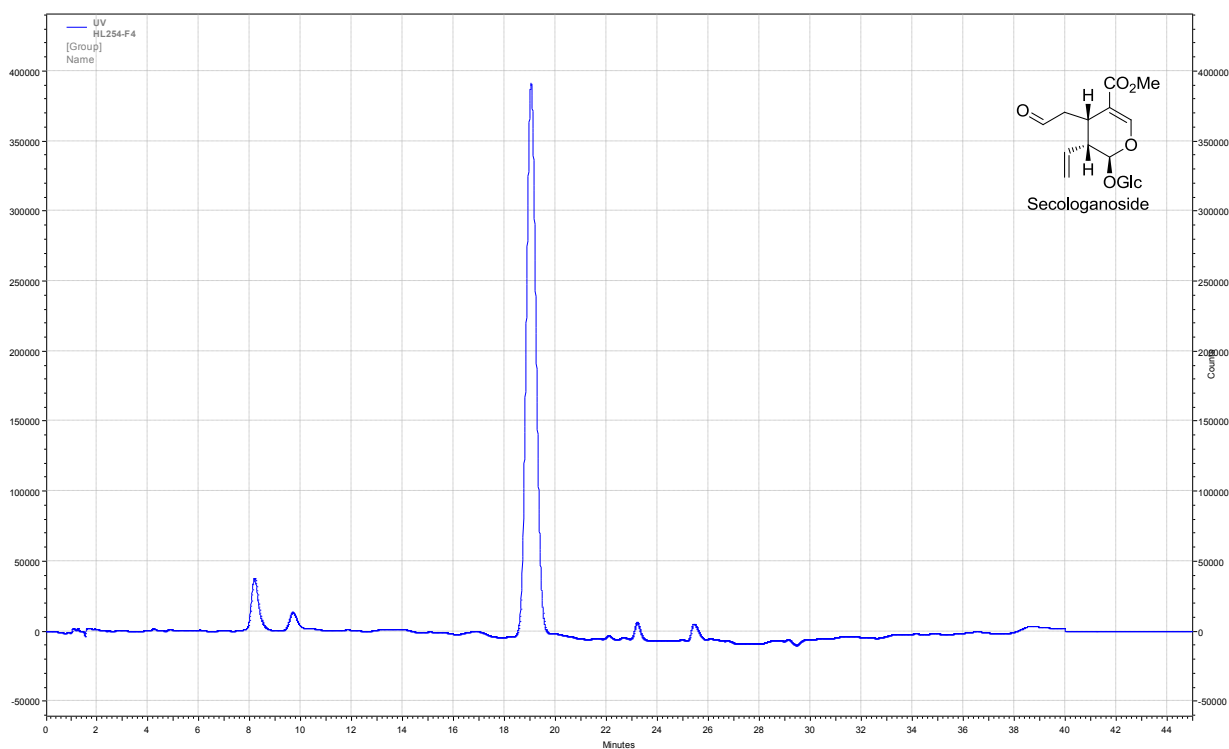


Figure 10 : Chromatogramme du sécologanoside (3) après un passage sur CPC

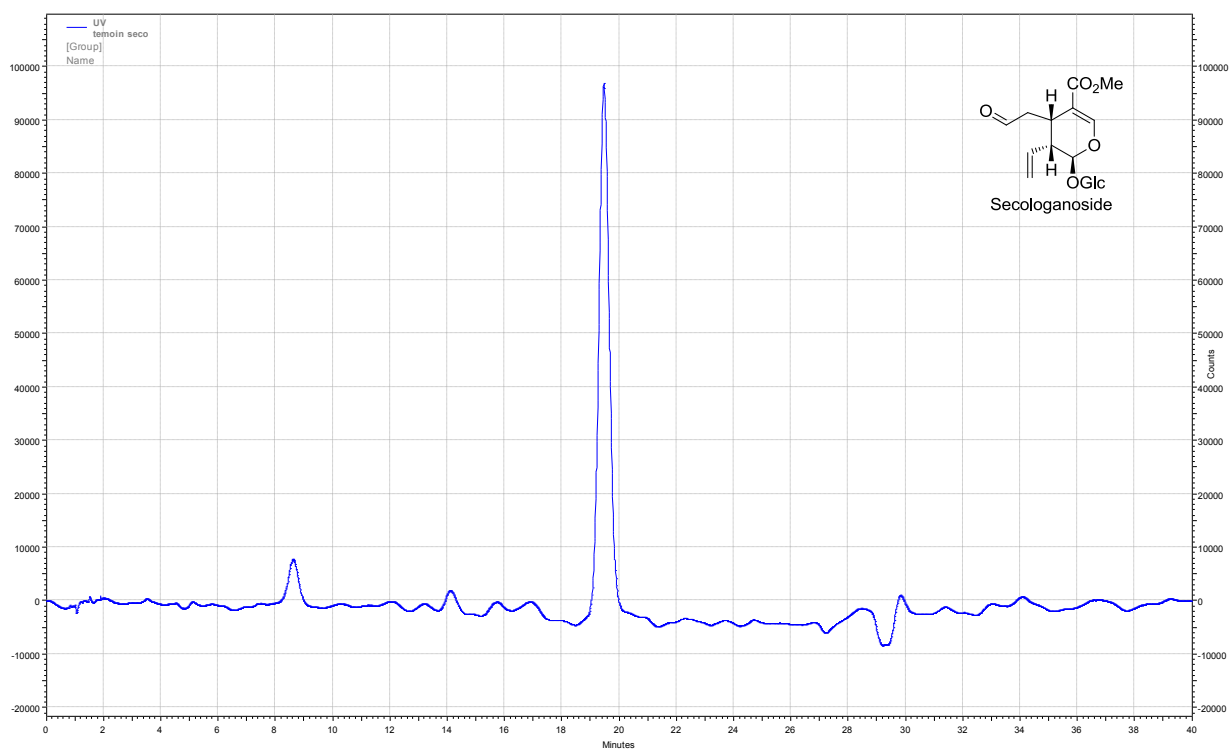


Figure 11 : Chromatogramme du sécologanoside (3) après plusieurs colonnes chromatographiques

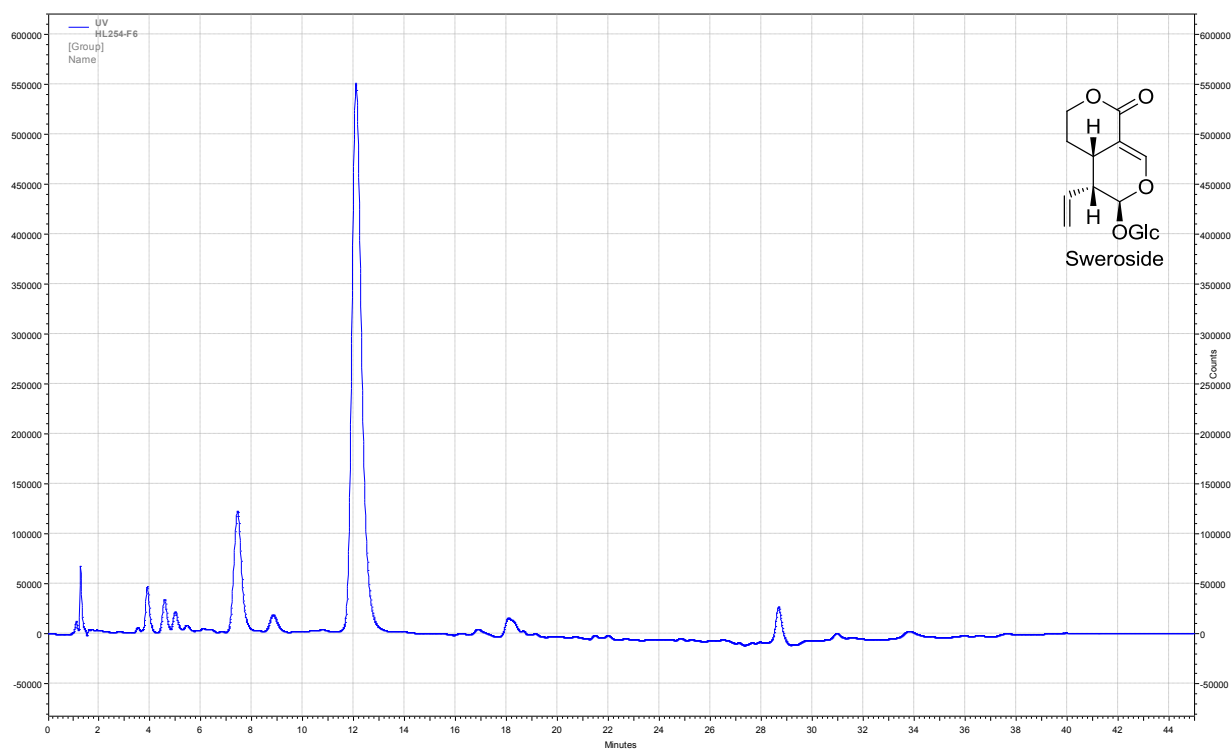


Figure 12 : Chromatogramme du sweroside (4) après un passage sur CPC

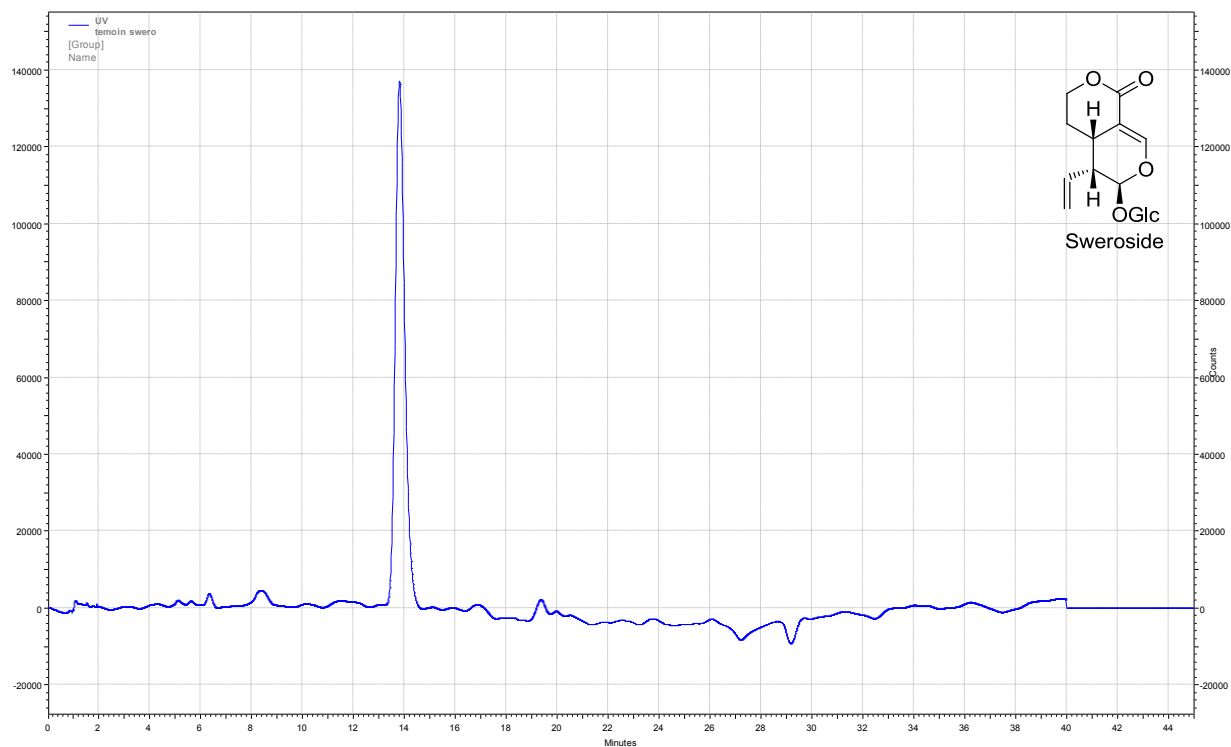


Figure 13 : Chromatogramme du sweroside (4) après plusieurs colonnes chromatographiques

2.3.3 Comparaison des méthodes classique et optimisée.

2.3.3.a) Tableau comparatif

La méthode de purification classique par V.L.C peut être comparée avec l'utilisation de la CPC pour la purification de 100 g d'extrait brut soit :

- 574 g de feuilles fraîches
- 2,0 g de sweroside (4)
- 2,9 g de sécologanoside (3)

Différents paramètres sont pris en compte, dans le cadre de cette étude, les critères importants sont la faible toxicité du procédé pour l'Homme comme pour l'environnement ainsi que le temps nécessaire.

	Méthode Tietze	Méthode O'Connor	Méthode classique	Procédé CPC
Solvant d'extraction	MeOH	MeOH	H₂O	H₂O
Système de solvant	Et₂O, Benzène / Acétone	DCM / MeOH	DCM / MeOH	AcOEt / <i>n</i>-Prop / H₂O
Quantité de solvant	n.r.	n.r.	≈ 100 L (30 L recyclé)	3 x 4L = 12 L dont 6 L d'eau (≈ 4 L AcOEt recyclé)
Silice	≈ 250 g	n.r.	≈ 500 g	Non
Toxicité	Très élevée	Elevée	Elevée	Faible
Co-élution des produits	n.r.	Oui, 2ème purification sur silice greffée C18	Oui	Non
Durée	n.r.	n.r.	> 5 jours	4 jours

Tableau 5 : Comparaison des procédés de purification pour 100g d'extrait de *Lonicera tatarica*
(n.r. : non renseigné)

Le tableau montre sans ambiguïté les avantages du procédé CPC par rapport à la méthode classique. En effet le procédé CPC est sans silice, les solvants sont utilisés en faible quantité, sont peu toxiques, et le mélange est constitué d'eau pour moitié. L'acétate d'éthyle peut être évaporé du mélange de solvant par distillation fractionnée sous pression réduite contrôlée. L'acétate d'éthyle peut alors être recyclé et réutilisé pour la constitution d'un nouvel éluant de CPC. De plus, bien qu'il soit nécessaire de réaliser 3 séparations sur 33 g d'extrait brut pour purifier 100 g, le temps total de purification reste

plus court que lors d'une purification classique. Enfin, grâce à l'optimisation du système de solvant, il n'y a aucune co-élution entre le sécologanoside (3) et le sweroside (4). Permettant ainsi de diminuer la durée totale du procédé.

2.3.3.b) Extrapolation d'échelle

Un des avantages de la CPC est la possibilité d'extrapolation d'échelle^{240,241}. En effet plus le rotor est grand plus la séparation est efficace. Des appareils CPC Pilote possédant un rotor de 12 L sont disponibles sur le marché. Les résultats obtenus sur le rotor de 1 L peuvent être extrapolés pour une purification à grande échelle sur 12 L par une simple multiplication. Ainsi nous pourrions envisager de purifier une dizaine de grammes de chaque matière première en une seule purification :

- 2,9 kg de feuilles fraîches
- 500 g d'extrait sec
- 48 L de solvant (dont 24 L d'eau)
- 14 g de sécologanoside
- 12 g de sweroside

De plus les temps de purification restent les mêmes ainsi il ne faudrait qu'environ 4 heures pour séparer le sécologanoside (3) et le sweroside (4) de l'extrait. L'évaporation des fractions peut nécessiter de 12 heures à 36 heures en fonction des capacités matérielles d'évaporation.

Il serait alors possible d'obtenir plus d'une dizaine de grammes de ces composés en moins d'une semaine contre au moins un mois en méthode classique. Nous allons maintenant utiliser ce procédé sur les tiges de *Lonicera tatarica*.

2.4 Etudes des tiges

Les tiges du *Lonicera tatarica* n'ont pas fait jusqu'à présent l'objet d'étude phytochimique. Aussi l'étude des composés majoritaires de l'extrait aqueux des tiges a été effectuée afin de connaître la teneur en sécologanoside (3) et en sweroside (4) des tiges.

2.4.1 Extraction des tiges sous pression

Les tiges ont été récoltées en même temps que les feuilles et ont été séchées pendant 2 mois à 20°C. Comme les profils CCM des tiges fraîches et des tiges sèches sont identiques, nous avons choisi de travailler avec les tiges sèches, car elles peuvent être broyées plus facilement. De plus la quantité de tiges sèches qui peut être introduite dans une cellule est plus importante que celle des tiges fraîches. Ainsi après broyage, les tiges sont extraites par l'eau à 95 °C sous 100 bars de pression. Jusqu'à 35 g de tiges peuvent être extraits par cellule, soit 140 g pour chaque extraction. L'extraction complète est effectuée après 2 cycles de la méthode précédemment décrite (Partie 2.3.1.b)).

L'extraction de 31,9 g de tiges sèches donne 3,76 g d'extrait sec soit un rendement d'extraction de 11,8 %.

2.4.2 Profil HPLC de l'extrait aqueux et séparation des produits majoritaires par CPC

Une partie de l'extrait obtenu est évaporé à sec et analysé par HPLC par la même méthode que précédemment. Le profil HPLC de l'extrait est plus complexe que celui des feuilles. Les principaux produits majoritaires ont été séparés par CPC et identifiés par RMN ^1H , ^{13}C et 2D.

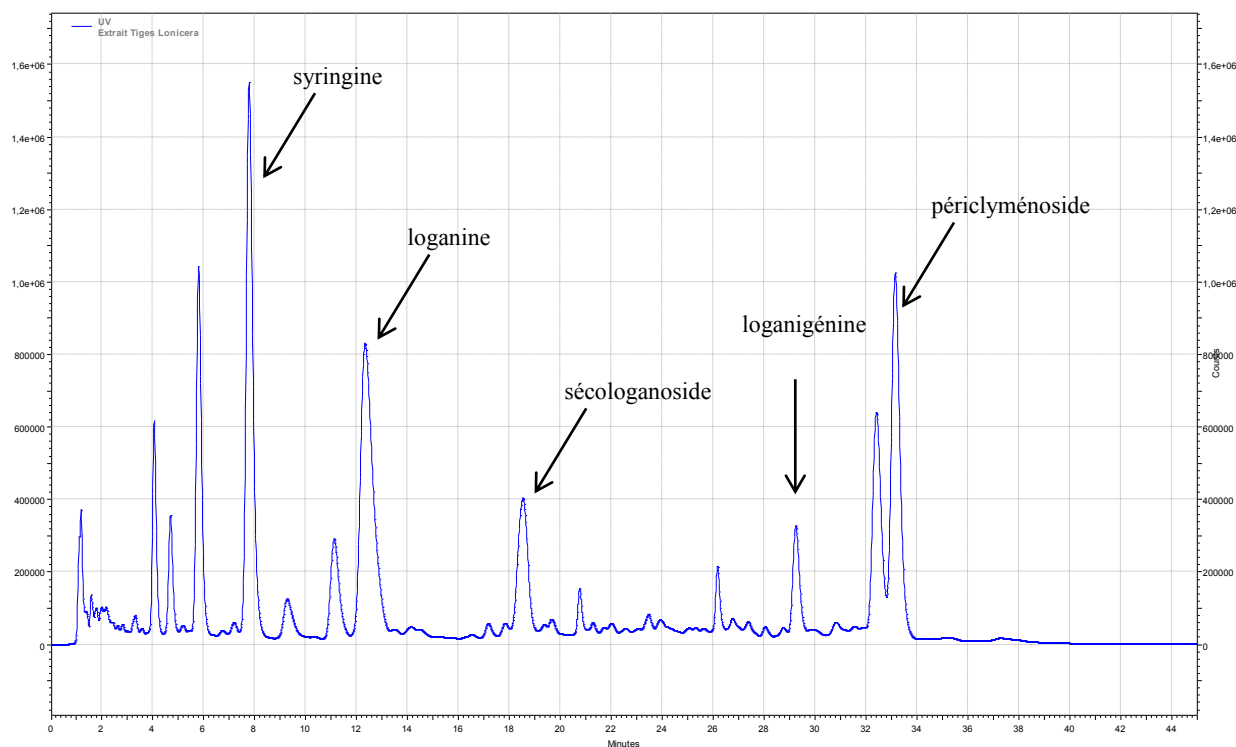
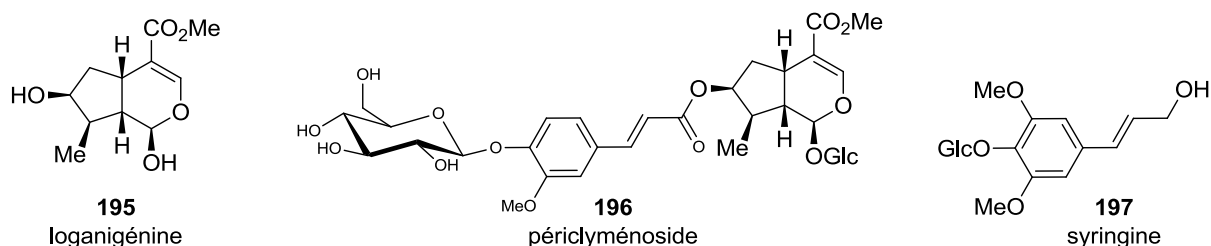


Figure 14 : Profil HPLC de l'extrait de tiges de *Lonicera tatarica* obtenu par extraction sous pression

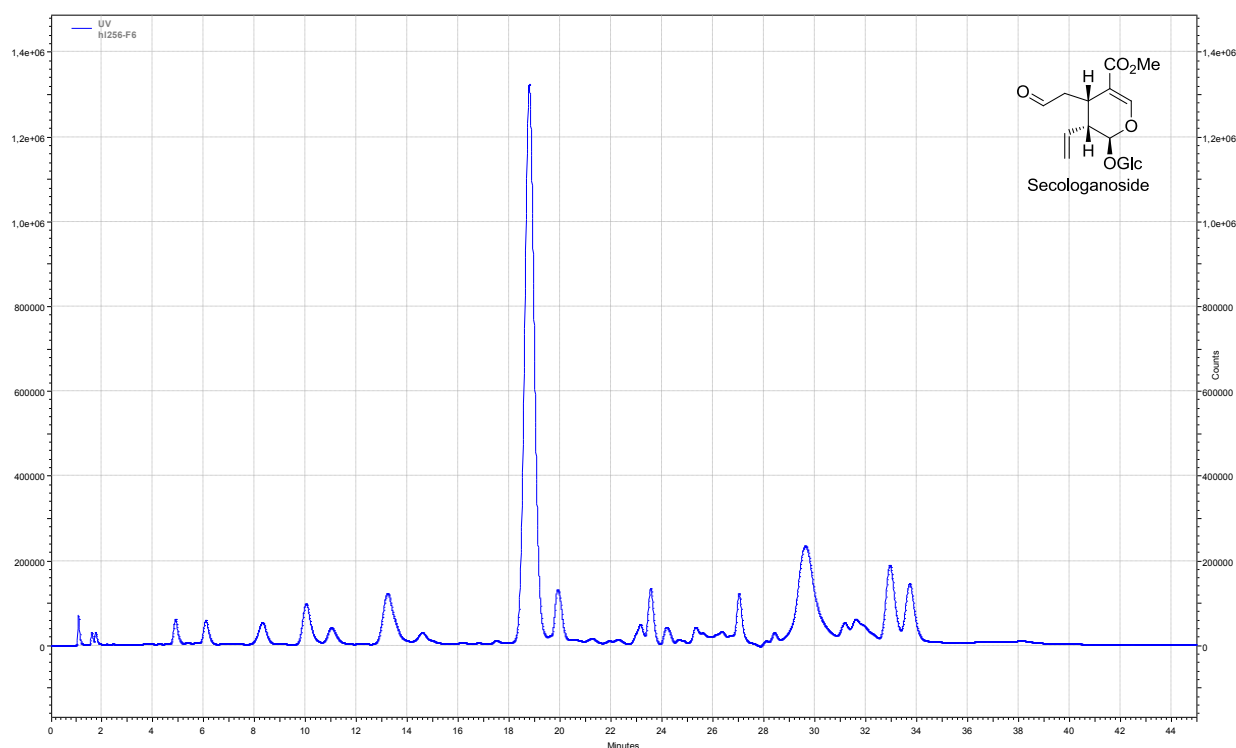
L'extrait aqueux obtenu à la sortie de l'extracteur automatique est directement injecté dans la CPC. Le système utilisé est le même que pour l'extrait de feuilles : gradient d'un système AcOEt / H_2O : 50 / 50 jusqu'à un mélange AcOEt / *n*-PrOH / H_2O : 7 / 3 / 10 en mode ascendant. Ce procédé permet l'isolement de cinq produits connus qui sont analysés par HPLC :

- La loganigénine ou loganétine (**195**)^{87,242} (34 mg, 0,12 % de matière végétale sèche)
- Le périclyménoside (**196**)^{170,243} (164 mg, 0,55 % de matière végétale sèche)
- La loganine (**14**)¹⁶⁵ : (201 mg, 0,67 % de matière végétale sèche)
- La syringine (**197**)²⁴⁴ (53 mg, 0,18 % de matière végétale sèche)
- Le sécologanoside (**3**) (78 mg, 0,26 % de matière végétale sèche)

La structure de ces composés a été déterminée par comparaison de leurs spectres RMN ^1H et ^{13}C avec les données de la littérature. Les spectres HPLC des fractions contenant chacun de ces composés sont donnés en partie expérimentale.

Schéma 84 Structure des composés isolés des tiges de *Lonicera tatarica*

Le sécologanoside (**3**) est isolé avec un plus faible rendement que dans les feuilles (0,26 % vs 1,3 % de matière végétale sèche), de plus après un passage sur la CPC, il est beaucoup moins pur que celui obtenu à partir des feuilles (voir chromatogramme ci-dessous).

Figure 15 : Chromatogramme du sécologanoside (**3**) isolé des tiges sèches après un passage sur CPC.

Il est à noter qu'aucune trace de sweroside (**4**) n'a été trouvée. Les tiges ne représentent pas une source intéressante de sweroside (**4**) ni de sécologanoside (**3**). Il est nécessaire de séparer les feuilles des tiges afin d'éviter de complexifier l'extrait de feuilles. En revanche, les tiges peuvent être une source de loganine (**14**) et de périlyménoside (**196**).

2.4.3 Hypothèses d'écologie chimique

D'un point de vue phytochimique nous pouvons constater que les composés majoritaires dans les tiges sont des iridoïdes alors que ceux sont des sécoiridoïdes dans les feuilles. Biogénétiquement nous avons vu que la loganine (**14**) est le précurseur du sécologanoside (**3**)²⁴⁵. Jusqu'à présent, l'enzyme

responsable de cette transformation, la secologanin synthase, n'a pas été isolée. Nous pouvons donc penser que cette enzyme se trouve essentiellement dans les feuilles.

D'un point de vue d'écologie chimique, cette observation est en accord avec le potentiel rôle défensif des iridoïdes en général et plus particulièrement des sécoiridoïdes spécialement ceux comportant une fonction aldéhyde très réactive comme le sécologanoside (**3**). Ainsi les composés les plus défensifs se trouvent dans les feuilles qui sont plus exposées aux prédateurs (insectes, herbivores) que les tiges^{58,246}.

3. Conclusion du chapitre 2

Nous avons réalisé l'extraction de plusieurs kilogrammes de feuilles d'*Olea europaea* et de *Lonicera tatarica* avec le solvant le moins polluant qu'il soit : l'eau.

Plus de 100 g d'oleuropéine (2) ont pu être rapidement isolé et le procédé de purification limite l'utilisation de solvants toxiques grâce à l'utilisation de résine d'adsorption. L'optimisation de ce procédé par l'utilisation de la CPC sera envisagée lors de la prochaine extraction.

Concernant le *Lonicera tatarica*, un nouveau un procédé vert d'extraction des feuilles et des tiges a été développé. Nous avons montré que les feuilles constituent une source intéressante de sécologanoside (3) et de sweroside (4) alors que les tiges peuvent constituer une source de loganine (14) et de périclyménoside (196).

Enfin la mise au point des conditions de séparation par CPC du sécologanoside (3) et du sweroside (4) à l'échelle du laboratoire constitue la base de travail pour un passage sur une échelle pilote. Ce procédé permet l'obtention de matières premières chirale de haute valeur ajoutée de manière simple, rapide, verte et économique.

Le schéma bloc de ce procédé est présente ci-dessous :

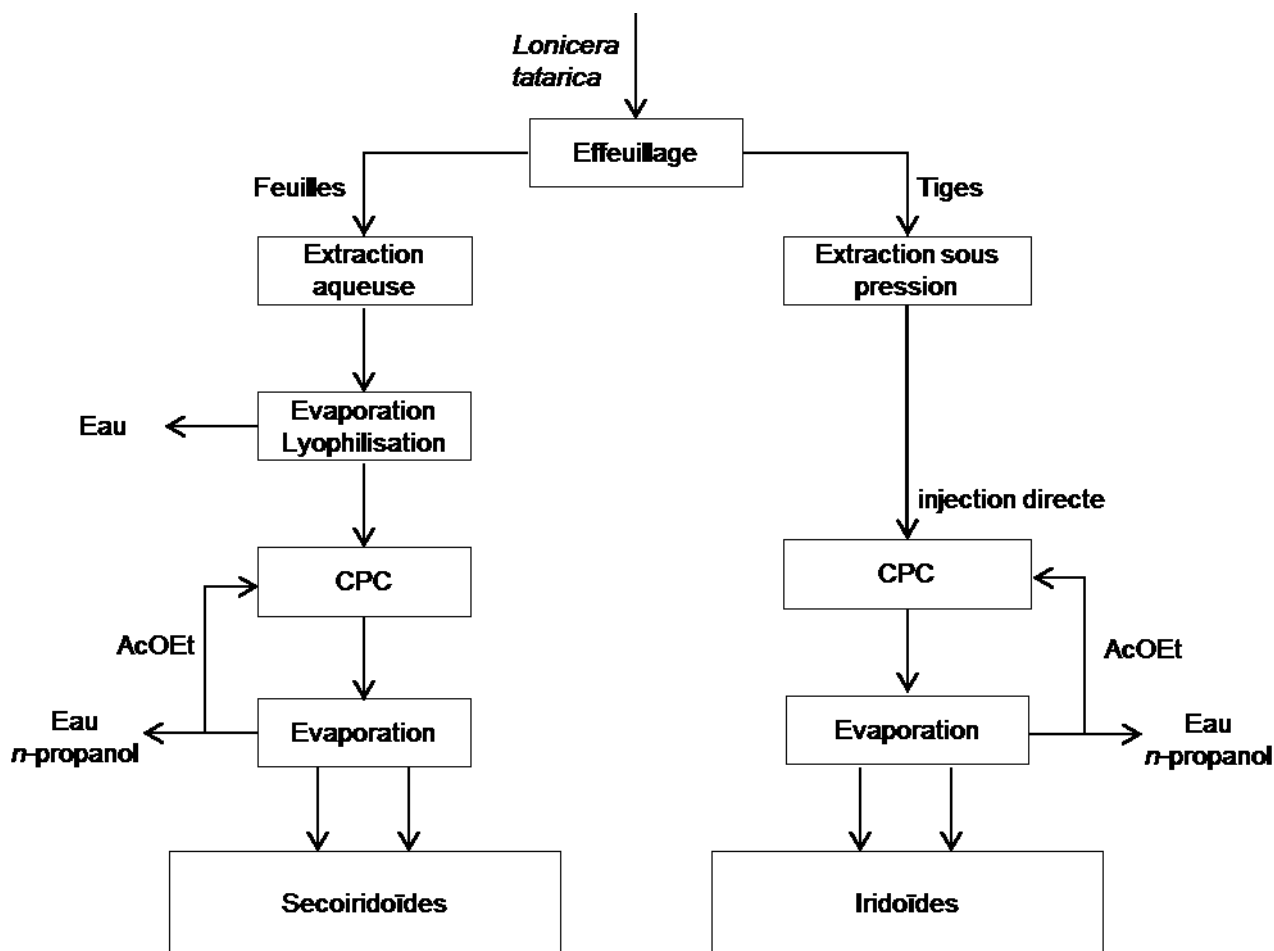


Figure 16 : Schéma bloc du procédé d'extraction du *Lonicera tatarica*

Chapitre 3 Etude de l'ouverture de lactone par le TMSNa : application au sweroside et à ses dérivés

Afin de valoriser les matières premières extraites en synthèse, il est nécessaire d'ouvrir la lactone du sweroside (**4**) de façon efficace et verte. Cependant, les lactones des sécoiridoïdes sont connues pour être très stables. Nous avons alors choisi d'utiliser le triméthylsilanolate de sodium (TMSNa) comme base. Après avoir décrit les propriétés et les utilisations de ce réactif en chimie organique, nous présenterons la méthodologie que nous avons mise au point pour ouvrir des lactones modèles. Nous étudierons ensuite le mécanisme de cette réaction, puis nous appliquerons notre méthode au sweroside (**4**) et à ses dérivés oxydés en C8-C10.

1. De la difficulté d'ouvrir la lactone du sweroside

1.1 Rappels bibliographiques

L'ouverture de la lactone du sweroside (**4**) est un enjeu très important d'un point de vue synthétique. En effet, l'ouverture de cette lactone peut permettre l'accès à de nouveaux synthons chiraux. Cependant la lactone du sweroside (**4**) est décrite pour être difficile à ouvrir à cause de la vitesse de relactonisation qui est très rapide. La forme lactone est très favorisée thermodynamiquement. Selon McLean et Hamilton, l'acide iodocarboxylique **198** obtenu par ouverture par le TMS-I est très instable¹⁸⁷.

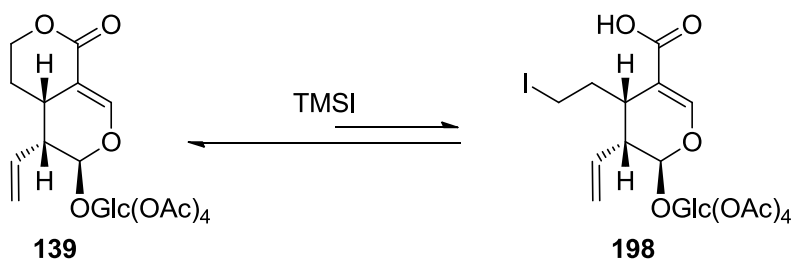


Schéma 85 : Relactonisation rapide de **198**

Dans cette même étude, les auteurs précisent que le composé **199**, relactonise à température ambiante.

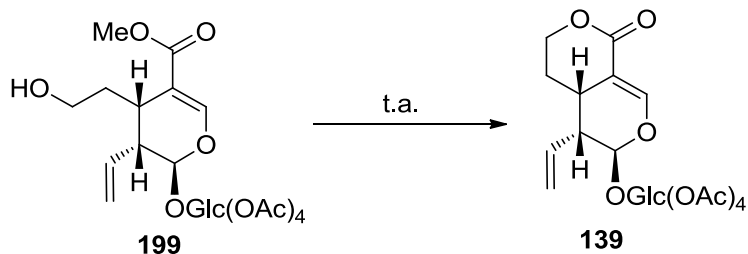


Schéma 86 : Relactonisation du composé **199**

Enfin, il est décrit que le sécologanol (**200**) extrait de *Fontanesia phillyreoides* relactonise lors de la purification sur silice pour donner 37 % de sweroside (**4**)²⁴⁷

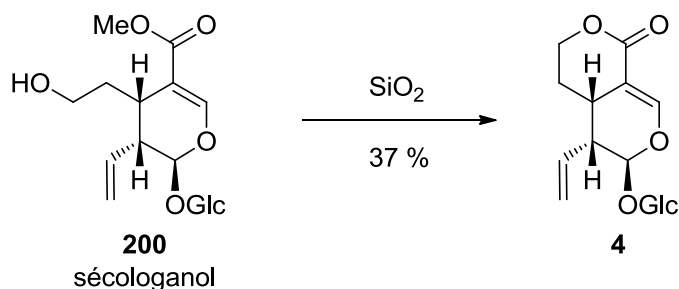


Schéma 87 : lactonisation du sécologanol (**200**) par passage sur silice

1.2 Essai d'ouverture de la lactone du sweroside

1.2.1 Pivaloylation du sweroside

Afin d'obtenir une petite chimiothèque de sécoiridoïdes utilisables en synthèse organique, nous avons souhaité mettre au point l'ouverture de la lactone du sweroside dont les alcools du glucose ont été protégés par des esters pivaliques stables. Ces groupements permettent d'une part de stabiliser la molécule face aux conditions acides et basiques douces, et d'autre part d'augmenter sa solubilité dans les solvants organiques apolaires. Des travaux réalisés préalablement au laboratoire ont montré que le TMSNa ne déprotège pas les groupements pivaloyles²⁴⁸.

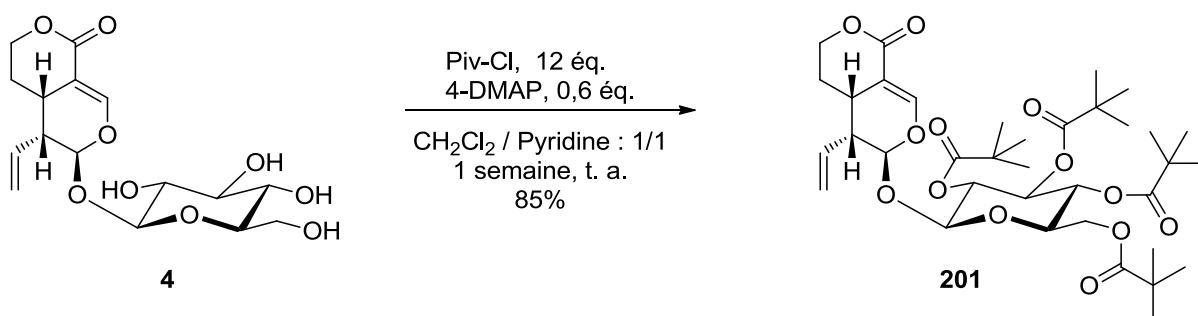


Schéma 88 : Pivaloylation du sweroside

La pivaloylation complète du sweroside dure 6 jours. Cette réaction procède avec un bon rendement (85 %). A cette étape, la purification de **201** permet l'élimination des impuretés qui proviennent de l'extrait naturel.

1.2.1.a) Essai d'ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside

Lorsque le perpivaloylsweroside (**201**) est mis en réaction avec 1 ou 2 équivalents de MeONa, très peu d'ouverture de lactone (composé **202**) est observée par CCM et RMN ¹H (<10 %). Un début de déprotection des groupements pivaloyles est en revanche observé. L'utilisation de bases inorganiques

telles que LiOH (1 à 5 éq.) et le NaOH (1 à 5 éq.) ne conduisent qu'à la déprotection des fonctions esters.

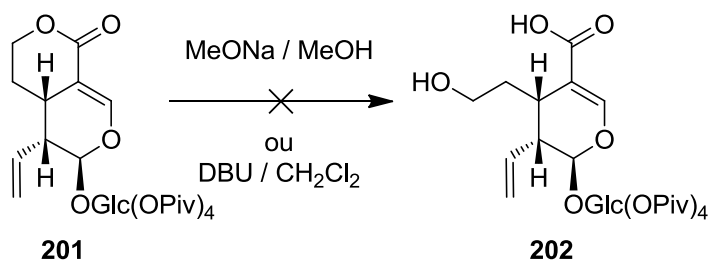


Schéma 89 : Essai d'ouverture de la lactone **201** par le méthanolate de sodium ou par le DBU

Lorsque le composé **201** est traité par le diaza-(1,3)-bicyclo-[5,4,0]-undécène (DBU), aucune ouverture de lactone ni déprotection ne sont observées.

2. Généralités sur les triméthylsilanolates

2.1 Préparations et propriétés du TMSONa

2.1.1 Préparations du TMSONa

La première préparation d'un silanolate de sodium, a été réalisée par Ladenburg en 1871 par différentes méthodes (triéthylchlorosilane et hydroxyde d'ammonium, hexaéthylidisiloxane et sodium)²⁴⁹. Le triméthylsilanolate de sodium (**203** ou TMSONa) a ensuite été synthétisé à partir du triméthylsilanol (**204**) et d'une solution de soude à 12 M par Whitmore *et al.* en 1946²⁵⁰. En 1952, Tatlock et Rochow²⁵¹ le prépare par action du sodium sur le triméthylsilanol (**204**) dans l'éther. Le composé étant très hygroscopique, il est alors purifié par sublimation. Enfin en 1953, il est préparé par réaction entre le disiloxane (**205**) et l'amidure de sodium avec un rendement de 80 %²⁵².

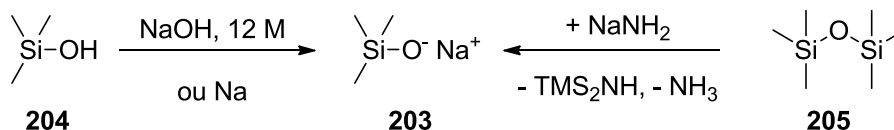


Schéma 90 : Méthodes de préparation du TMSONa

2.1.2 Propriétés acido-basique et structurales

La formation du TMSONa par la soude montre que les silanols sont plus acides que les carbinols correspondants. Ainsi le pKa du couple TMSOH / TMSONa a été évalué par spectroscopie infrarouge à 12,7 alors que celui du tBuOH est de 19 avec cette méthode^{253,254}. Cette acidité peut s'expliquer par l'effet α du silicium (caractère accepteur du silicium) susceptible de stabiliser la charge négative de l'anion TMSO⁻.

Concernant la structure des triméthylsilanolates, l'étude cristallographique par diffraction des rayons X du TMSOK, a montré que cet anion possède une structure tétraédrique déformée et que les liaisons Si-C (1,879 Å) et Si-O (1,580 Å) sont plus longues que leurs analogues carbonés C-C et C-O²⁵⁵. De plus

le rayon covalent du silicium est plus grand que le celui du carbone (1,17 Å contre 0,77 Å)²⁵⁶. Les triméthylsilanolates présentent donc un encombrement stérique plus important que leurs équivalents carbonés.

2.2 Réactivité nucléophile des triméthylsilanolates

Les exemples d'utilisations des triméthylsilanolates de sodium ou potassium comme nucléophile sont assez nombreux. Ces différentes utilisations décrites sont décrites ci-après.

2.2.1 Hydrolyse d'ester par les silanolates

2.2.1.a) Hydrolyse d'ester méthylique

En 1984, Laganis et Chenard²⁵⁷ montrent que les silanolates sont des équivalents de l'ion hydroxyde solubles dans les solvants organiques. Cette propriété leur permet de réaliser la saponification d'esters peu solubles dans l'eau dans des conditions non aqueuses. Les auteurs utilisent le TMSOLi, le TMSNa et le TMSOK pour former les sels **206a-d** dans des solvants aprotiques (Et₂O, THF, PhMe ou CH₂Cl₂) à partir des esters **207a-d**. Les réactions ont lieu à température ambiante avec des rendements allant de 51 % à 98 %. Le TMSOLi est la base la moins réactive en effet la réaction de saponification de **207c** nécessite un chauffage à reflux du toluène pour un rendement de 51 % alors que la même réaction avec le TMSOK a lieu à température ambiante avec un rendement de 82 %.

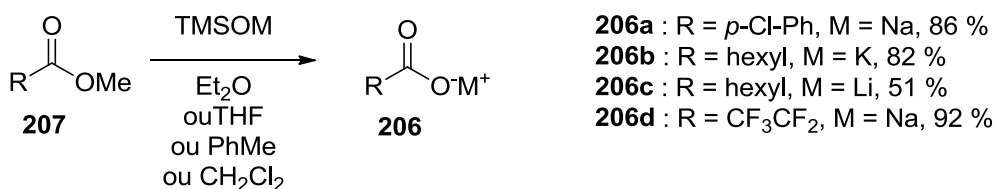


Schéma 91 : Saponification d'esters par les triméthylsilanolates de lithium, sodium et potassium

Les auteurs ont aussi effectué l'hydrolyse des chlorures d'acyle **208** en présence de 2 équivalents de TMSOK. Cette réaction permet la formation des sels de potassium **206e-f** avec des rendements de 75 % à 87 %.

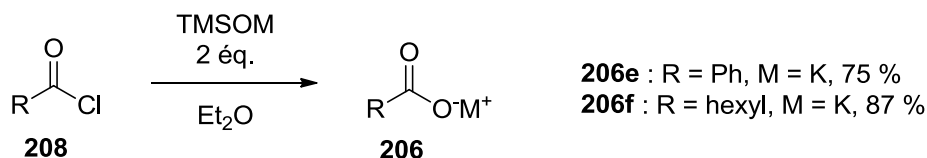


Schéma 92 : Hydrolyse des chlorures d'acyle par le TMSOK

Dans cette réaction la première étape est l'addition du TMSO⁻ sur le chlorure d'acyle **208** pour donner le composé **209**. L'attaque d'une deuxième molécule de TMSO⁻ sur le silicium de **209** conduit à la formation de (TMSO)₂ et du carboxylate de potassium **210**.

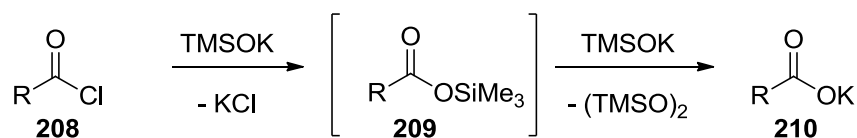
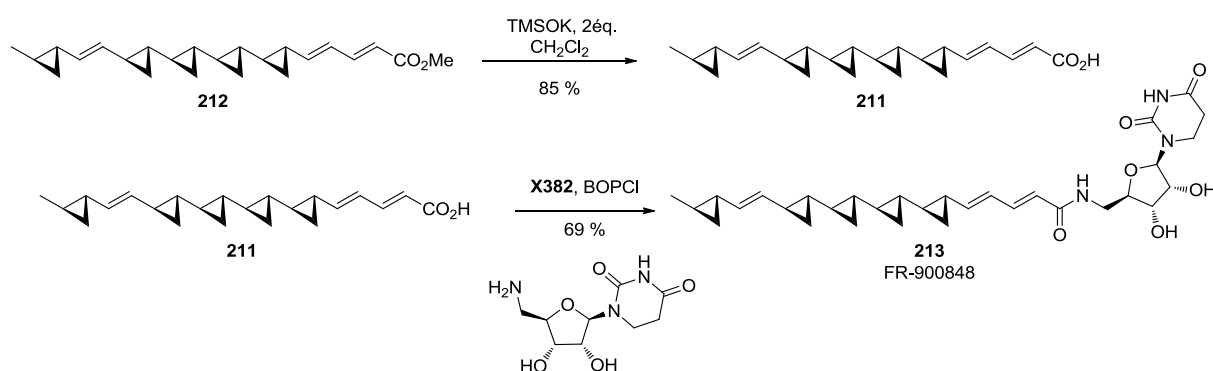
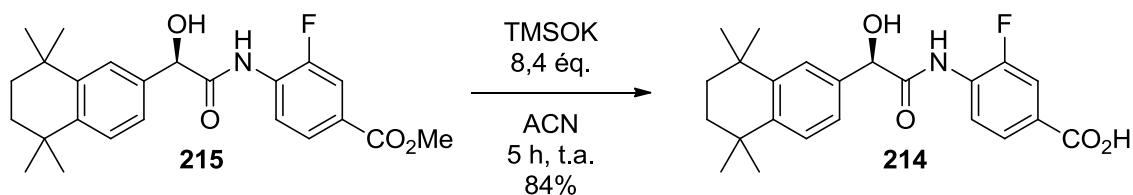


Schéma 93 : Mécanisme d'hydrolyse des chlorures d'acyle par le TMSOK

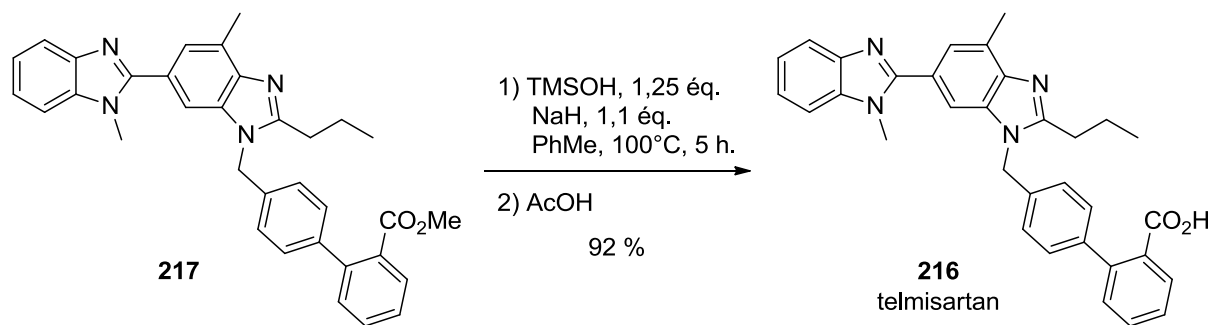
Depuis la publication de Laganis et Chénard, quelques exemples d'utilisation du TMSOK ou du TMSONa pour l'hydrolyse d'esters ont été décrites²⁵⁸⁻²⁶⁴. Parmi ces exemples, Barrett *et al.*²⁶⁰ ont utilisé le TMSOK pour obtenir l'acide **211** à partir de l'ester **212**, dernier intermédiaire pour la synthèse de l'agent antifongique FR-9000848 (**213**). Cette réaction procède avec un bon rendement de 85 % alors que l'utilisation de NaOH conduit uniquement à de la dégradation.

Schéma 94 : Synthèse de **213** à partir de **212**

Les triméthylsilanolates ont été utilisés dans deux autres synthèses de composés d'intérêts thérapeutiques. D'une part pour la synthèse multigrammes du composé BMS-270394 (**214**). Dans ce cas l'utilisation de base classique conduit à l'épimérisation du centre asymétrique de **215**. Lorsque la base utilisée est le TMSOK dans l'acétonitrile, l'excès énantiomérique est de 98,4% avec un rendement de 84 %.

Schéma 95 : Hydrolyse de l'ester **215** avec une très faible épimérisation

D'autre part, un brevet a récemment décrit la synthèse du Telmisartan **216** un antagoniste de l'angiotensine II²⁶⁵. L'étape clé est l'hydrolyse du méthyl ester de **217** par le TMSONa formé *in-situ*.



2.2.1.b) Hydrolyse d'esters d'alcools secondaires et aromatiques

Les exemples que nous venons de citer concernent uniquement des esters méthyliques. En 2007, Lovrić et *al.*²⁶³ ont étudié l'étendue et les limites de l'utilisation des triméthylsilanolates de sodium ou potassium pour la conversion d'ester en acide carboxylique. Les auteurs ont effectué cette réaction avec des esters de différents types : ester d'acide aliphatique ou aromatique et d'alcools primaires (**218a, d, h-l, p**), secondaires (**218b, m**), tertiaires (**218b**), allyliques (**218e, n**), benzyliques (**218f, o**) et phénoliques (**218g**). Ils ont aussi utilisé des esters d'acides α,β -insaturés (**218p**) et des acides aminés (**219a-d**).

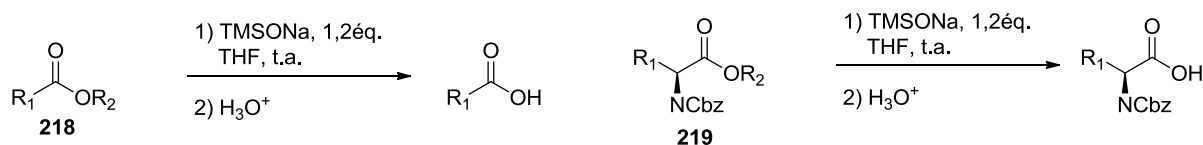


Schéma 97 : Hydrolyse d'esters de type **218** et **219** par le TMSNa

Ester	R ₁	R ₂	Temps h	rdt %
218a	Ph	Et	3	92
218b	Ph	<i>i</i> -Pr	48	74
218c	Ph	<i>t</i> -Bu	26	30
218d	Ph	<i>n</i> -C ₅ H ₁₁	6	90
218e	Ph	CH ₂ =CHCH ₂	3	97
218f	Ph	Bn	45	96
218g	Ph	Ph	70	75
218h	<i>o</i> -I-Ph	Me	18	93
218i	<i>o</i> -OH-Ph	Me	18	94
218j	<i>o</i> -NH ₂ -Ph	Me	30	92
218k	PhCH ₂ CH ₂	Me	2	95
218l	PhCH ₂ CH ₂	Et	6	99
218m	PhCH ₂ CH ₂	<i>i</i> -Pr	48	99
218n	PhCH ₂ CH ₂	CH ₂ =CHCH ₂	5	99

Ester	R ₁	R ₂	Temps h	rdt %
218o	PhCH ₂ CH ₂	Bn	72	95
218p	PhCH=CH	Et	20	94
219a	(CH ₃) ₂ CHCH ₂	Bn	4,5	90
219b	CH ₃ CH ₂ (CH ₃)CH	Bn	3,5	95
219c	Ph	Bn	1,5	98
219d	Bn	Bn	0,5	96

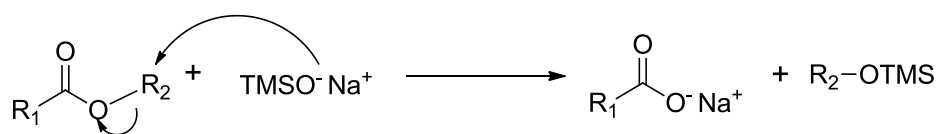
Tableau 6 : Résultats de l'hydrolyse des esters de type **218** et **219** par le TMSONa

De cette étude, il ressort que le triméthylsilanolate de sodium est un réactif très efficace pour l'hydrolyse de ces esters, dans le THF et à température ambiante ou à reflux. Il a été montré que les esters d'acides tertiaires ne réagissent pas ou très peu (**218c**). Dans le cas d'esters d'acides aminés chiraux (**219a-d**) les auteurs ont observé une légère épimérisation (0,3 à 3,5 %), cependant l'isomère majoritaire peut être facilement purifié par cristallisation.

Dans cette étude, les auteurs proposent deux types de mécanismes pour l'hydrolyse des esters par les triméthylsilanolates de sodium ou de potassium.

Premièrement, il propose un mécanisme rarement observé en estérification²⁶⁶ de type B_{AL}2 (catalyse basique pour le clivage O-ALkyl bimoléculaire) pour lequel le silanolate attaquerait sur le carbone du groupement alkyle, avec départ du carboxylate.

Mécanisme de type B_{AL}2 :

Schéma 98 : Mécanisme d'hydrolyse d'esters de type B_{AL}2

Bien que ce mécanisme semble expliquer que les esters d'alcools tertiaires ne réagissent pas, il ne permet pas d'expliquer le rendement (75 %) de la réaction avec le benzoate de phényle (**218g**). En effet, dans ce cas la substitution nucléophile du silanolate ne peut avoir lieu sur la position benzylique. Pour expliquer cela, les auteurs proposent le mécanisme classique d'hydrolyse des esters par une base de type B_{AC}2 (catalyse basique pour le clivage O-ACyle bimoléculaire) pour lequel l'attaque du silanolate aurait lieu sur le carbone acyle avec départ de l'alcoolate.

Mécanisme de type B_{AC}2 :

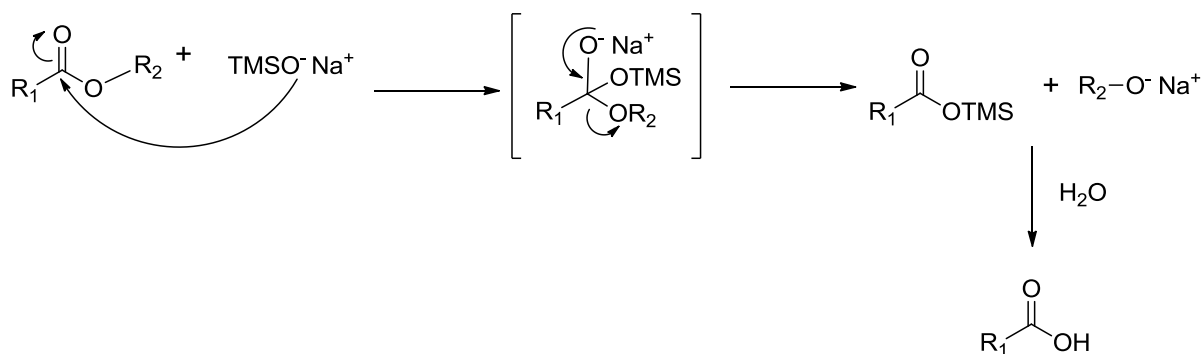


Schéma 99 : Mécanisme d'hydrolyse d'esters de type B_{AC}2

Cette étude est à ce jour la seule à proposer un mécanisme d'hydrolyse des esters par le triméthylsilanolate. Cependant aucunes données physico-chimiques ne sont présentées pour conclure sur le mécanisme et aucune preuve n'est fournie pour étayer la thèse du mécanisme B_{AL}2. Nous rediscuterons du mécanisme dans la partie 4 de ce chapitre.

Ces différents exemples montrent que les triméthylsilanolates de sodium et de potassium sont des réactifs de choix pour l'hydrolyse d'esters variés en conditions douces et non aqueuses.

2.2.2 Formation de sels de N-(trifluorométhylsulfonyl)trifluoromethanesulfinimide par les silanolates

Les sels de N-(trifluorométhylsulfonyl)trifluoromethanesulfinimide **219** sont formés par hydrolyse du chlorure de sulfinimidoyl **220** par deux équivalents de silanolates de lithium, sodium et potassium dans le DMF avec des rendements de 81 %, 87 % et 79 % respectivement²⁶⁷.

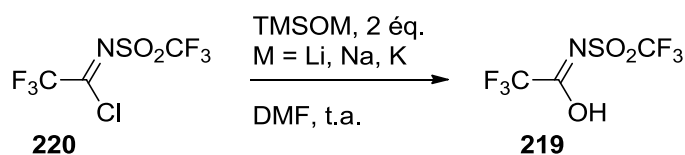
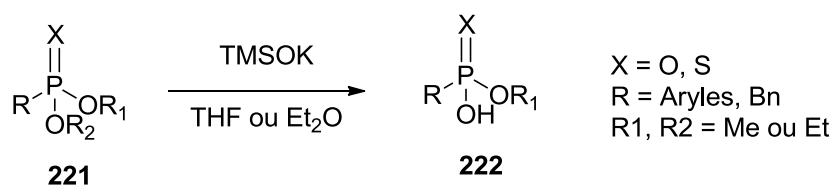


Schéma 100 : Formation des sels **219**

2.2.3 Hydrolyse de dialkylphosphonates par TMSOK

Le TMSOK peut aussi être utilisé pour hydrolyser des dialkylphosphonates **221** en monoalkylphosphonates de potassium anhydre **222**. Les produits finaux **222** sont isolés facilement par précipitation dans l'éther avec de bons rendements (79-98 %)²⁶⁸.

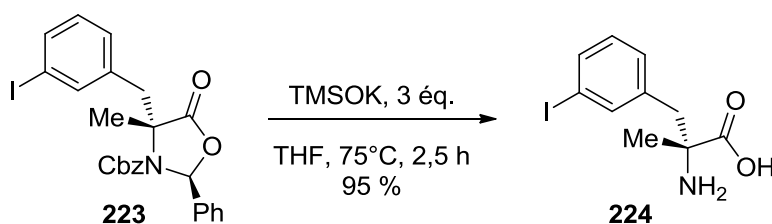
Schéma 101 : Mono-hydrolyse de dialkylphosphonates **221** par le TMSOK

2.2.4 Ouverture d'oxazolidinones par TMSOK

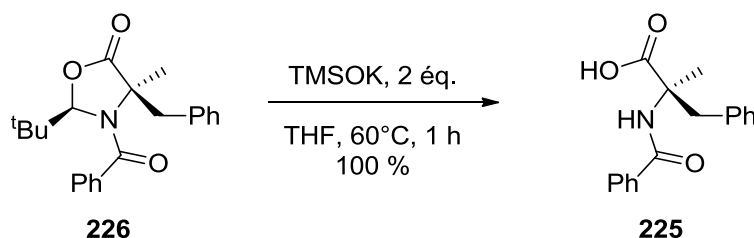
L'ouverture d'oxazolidinones chirales est généralement utilisée pour l'obtention d'acides α -aminés non-naturels. Cependant les conditions d'hydrolyse sont généralement dures (HCl concentré à reflux, excès de NaOH et hydrogénation sous pression) et peuvent épimériser les centres chiraux ou dégrader le substrat. En 2003, Procopiu a montré que l'utilisation de TMSOK est une alternative efficace et douce pour l'ouverture des oxazolidines²⁶⁹.

2.2.4.a) Ouverture d'1,3-oxazolidin-2-ones

L'utilisation de 3 équivalents de TMSOK permet non seulement l'ouverture de la 1,3-oxazolidin-2-one **223** mais aussi la déprotection du carbamate, libérant ainsi l'acide aminé **224** avec un rendement de 95 % en 2,5 h à 75 °C²⁶⁹.

Schéma 102 : Ouverture de la 1,3-oxazolidin-2-one **223** par le TMSOK

Avec un groupement protecteur plus robuste comme le N-benzoyle, l'acide aminé N-protégé **225** est obtenu avec un rendement quantitatif en une heure à 60°C à partir de **226**.

Schéma 103 : Ouverture de la 1,3-oxazolidin-2-one **226** par le TMSOK

2.2.4.b) Ouverture d'1,3-oxazolidin-5-ones

Cette stratégie a été utilisée pour la synthèse du (*R*)-salmétérol (**227**), un bronchodilatateur utilisé dans le traitement de l'asthme. La 1,3-oxazolidin-5-one **228** est ouverte par le TMSOK pour donner l'acide aminé correspondant avec un rendement de 96 %. La déprotection des alcools en conditions acide conduit au (*R*)-salmétérol (**227**) avec un rendement de 80 %.

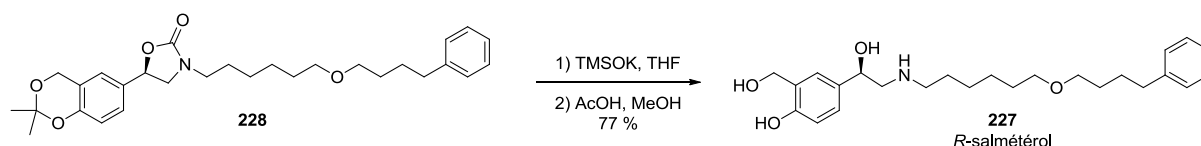


Schéma 104 : Synthèse du (*R*)-salmétérol (**227**) par ouverture de la 1,3-oxazolidin-5-one **228** par le TMSOK

Au cours de cette synthèse les auteurs n'observent pas d'épimérisation pendant l'étape d'ouverture de l'oxazolidine **228**.

2.2.5 L'anion TMSO⁻ comme équivalent synthétique de l'ion hydroxyde

2.2.5.a) Substitution nucléophile aromatique par déplacement de fluorure

Le TMSNa peut être utilisé comme nucléophile pour la substitution nucléophile aromatique (S_NAr) de l'ion fluorure des anthraquinones et leurs dérivés azotés **229**. La réaction procède à température ambiante, après hydrolyse du TMS par le fluorure. L'anion **230** peut être isolé ou neutralisé en composé **231** avec des rendements allant de 75 à 83 %²⁷⁰.

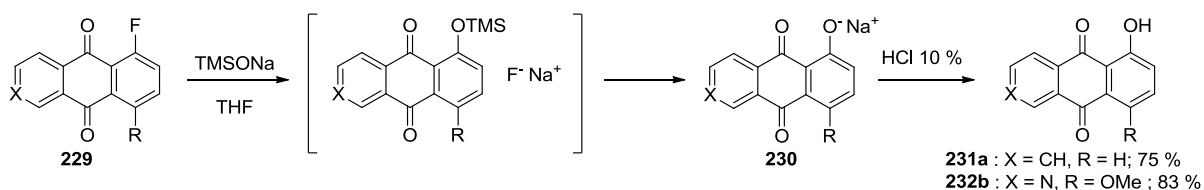


Schéma 105 : S_NAr d'anthraquinones et d'aza-anthraquinones fluorés par le TMSNa

2.2.5.b) Substitution nucléophile aromatique par déplacement de chlorure

L'ion chlorure peut jouer le rôle de groupe partant lors de la S_NAr par le TMSOK. Dans l'exemple suivant les chloropyrimidines **232** sont converties en hydroxypyrimidines **233** avec de rendements allant de 27 % à 58 %²⁷¹. Pour effectuer cette S_NAr, il est nécessaire de chauffer le milieu réactionnel à 100 °C.

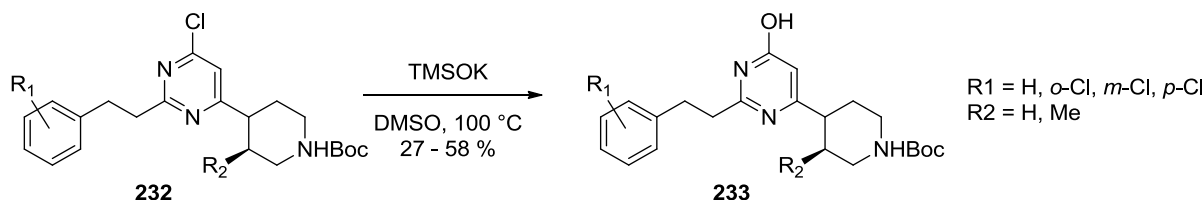


Schéma 106 : S_NAr de chloropyrimidines **232** par le TMSOK

2.2.5.c) Addition de type Michael sur des 1-(phénylthio)-1-nitroalcènes

Les propriétés nucléophiles du TMSOK ont aussi été utilisées pour l'addition de type Michael sur le nitoalcène **234**. L'addition a lieu à 0 °C en 30 min conduisant à l'azinate intermédiaire **235** qui est directement ozonolysé pour conduire à l' α -hydroxy thioester **236** avec un rendement de 94 % et un

excès diastéréoisémique de 15 / 1²⁷². Le composé **236** est un intermédiaire pour la synthèse totale de la Polyoxin C.

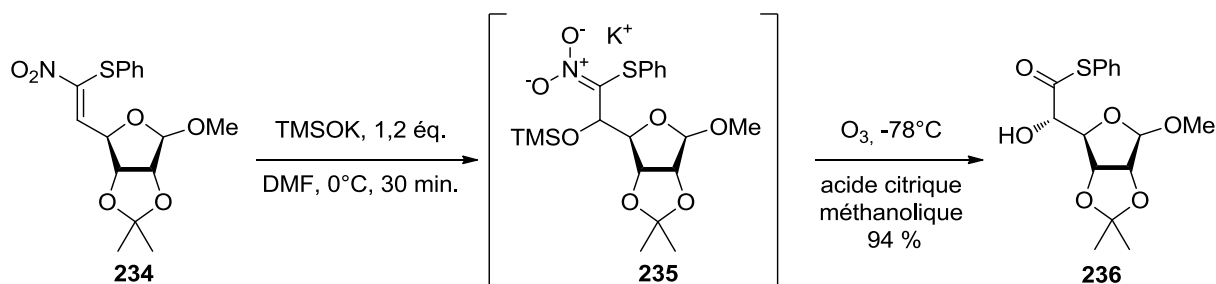


Schéma 107 : Addition de type Michael du TMSOK sur le composé **236**

2.2.6 Synthèse de dérivés aminés

2.2.6.a) Synthèse d'amine par réaction de Curtius modifiée

La réaction de Curtius consiste à former un isocyanate (**237**) par réarrangement d'un acyle azide (**238**) obtenu à partir d'un acide carboxylique (**239**). L'hydrolyse de l'isocyanate peut conduire à la formation d'amine primaire²⁷³.

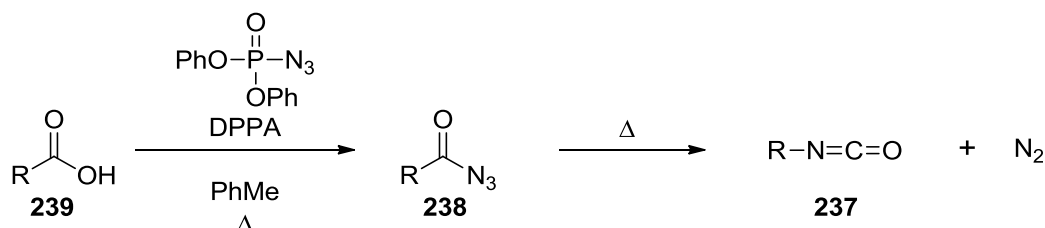


Schéma 108 : Synthèse d'isocyanates **237** à partir d'acides carboxyliques **239** via le réarrangement de Curtius

Lorsque l'isocyanate **237** est hydrolysé par NaOH la réaction est longue nécessite un chauffage, de plus la formation de sous-produits de type urée est observée. En revanche l'utilisation de deux équivalents de TMSONa dans le mélange THF / Toluène à 0°C conduit à la formation en 20 minutes à 6 heures des amines primaires **240** avec des rendements de 56 % à 87%²⁷⁴.

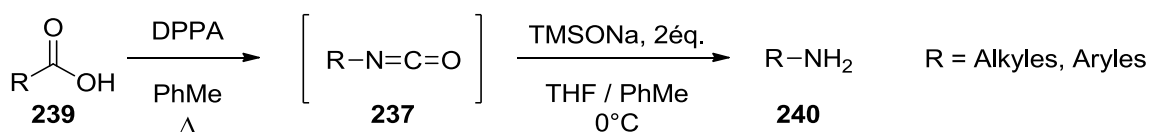


Schéma 109 : Formation d'amine par hydrolyse *in-situ* d'isocyanates **237** par le TMSONa

2.2.6.b) Hydrolyse de nitrile par le TMSOK pour la synthèse d'amine primaire

En 2000, Merchant décrit la synthèse d'amide par hydrolyse de nitriles avec le TMSOK²⁷⁵. Dans l'exemple suivant, deux équivalents de TMSOK, dans le THF à reflux permettent de convertir le benzonitrile **241** en benzamide **242** avec un rendement de 83 %.

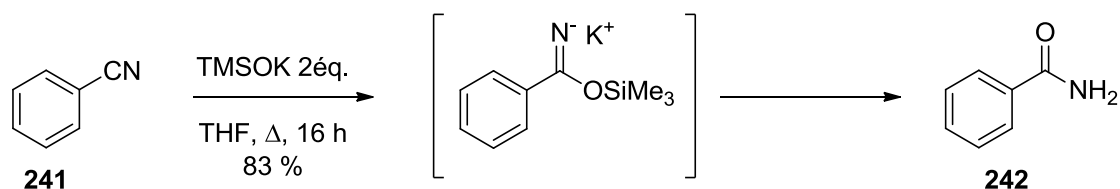


Schéma 110 : Synthèse du benzamide (**241**) aromatique par réaction du TMSOK avec le benzonitrile (**242**)

2.2.6.c) Synthèse de cinnamamides à partir d'aldéhydes aromatiques et d'acétonitrile en présence de TMSOK

Le TMSOK a aussi été utilisé comme base pour la condensation de Knoevenagel pour la condensation entre l'acétonitrile et différents aldéhydes **243**²⁷⁶. Le composé **244** ainsi formé élimine une molécule d'eau pour donner les nitriles α,β -insaturés **245**. Selon la réaction décrite par Merchant, le nitrile est converti en amide par action d'une deuxième molécule de TMSOK. La réaction, réalisée en 3 heures dans le toluène à reflux avec différents aldéhydes aromatiques conduit aux cinnamamides **246** avec des rendements allant de 63 % à 89 %.

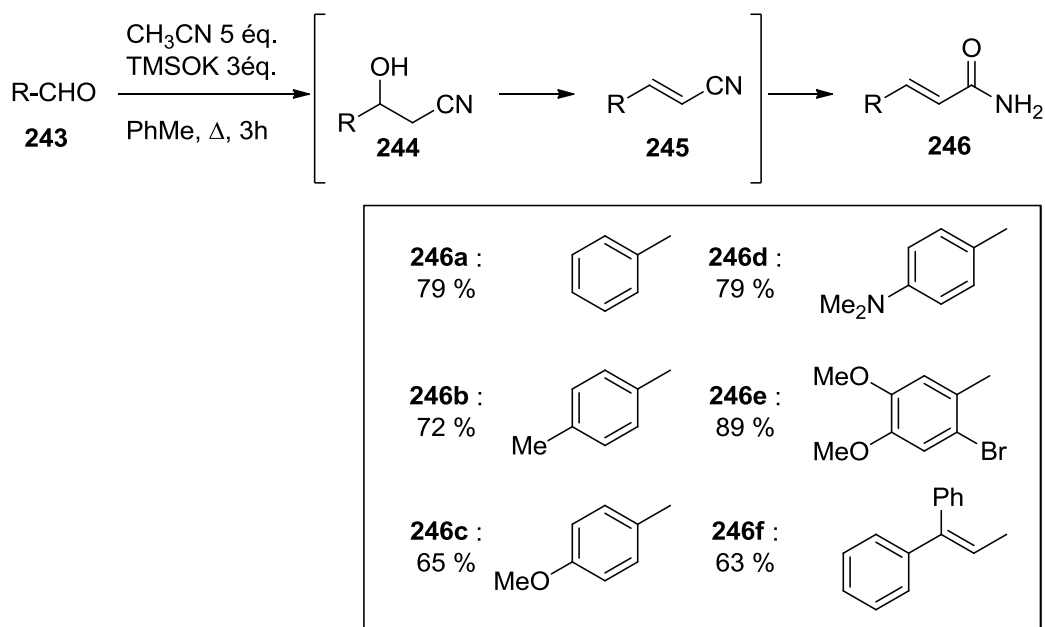


Schéma 111 : Formation de cinnamamides de **246** à partir d'aldéhydes aromatiques et d'acétonitrile en présence de TMSOK

2.3 Réactivité basique des triméthylsilanolates

Le caractère basique des triméthylsilanolates est moins décrit que le caractère nucléophile cependant ils ont pu être utilisés comme base pour des réactions d'élimination et pour des réactions de couplage croisé au palladium.

2.3.1 Formation d'oléfines par élimination

2.3.1.a) A partir de β -méthoxy- β -(triméthylsilyl)éthylcétones

En 1987, Christiansen *et al.* décrivent la formation de vinylsilanes **247** par élimination de MeOH de β -méthoxy- β -(triméthylsilyl)éthylcétones **248**. La réaction a lieu avec le TMSONa en solution à 1 M dans le CH₂Cl₂ à 0°C pendant une heure. Les rendements obtenus vont de 60 % à 93 %.

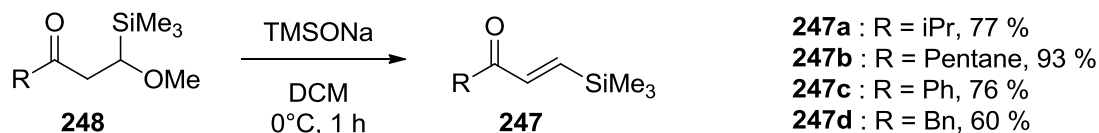


Schéma 112 : Formation de vinylsilanes **247** à partir de **248**

2.3.1.b) A partir de sels d'iminiums

Les sels d'iminium comportant un α -CH peuvent être déprotonnés par le TMSONa pour donner les α -alkinylénamines correspondantes. Dans l'exemple suivant l' α -alkinylénamine **249** est obtenue à partir de l'iminium **250** avec un rendement de 91 % par action du TMSONa dans l'acétonitrile²⁷⁷. Aucune addition du TMSO⁻ sur l'iminium n'a été observée par les auteurs.

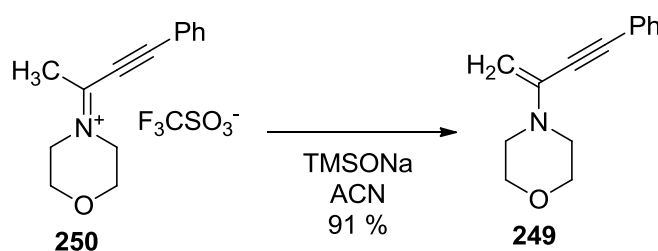


Schéma 113 : Formation de l'énamine **249** à partir de l'imine **250**

2.3.1.c) A partir de sulfone d'aryle

L'élimination des sulfones d'aryles **251** est effectuée par l'action de cinq équivalents de TMSOK dans le THF à 70°C pendant 12 heures²⁷⁸. Les alcènes (**252**) isolés sont toujours de configuration *trans*. L'utilisation du TMSOLi et du TMSONa comme base ne permet pas la conversion de la sulfone en alcènes.

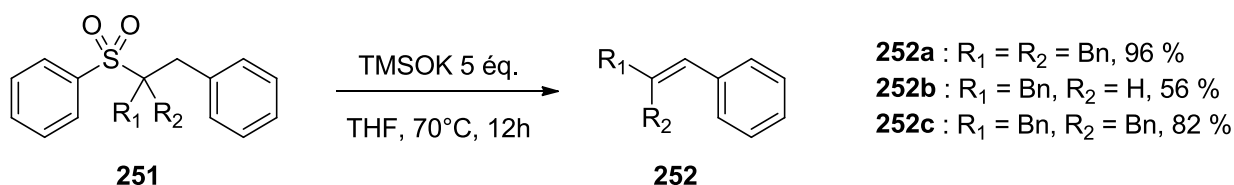


Schéma 114 : Élimination des sulfones d'aryles **251** par le TMSOK

2.3.2 Réactions de couplage croisé

Le couplage au palladium de Kumada et Hiyama²⁷⁹ entre un organosilane et un halogénure d'aryle est généralement activé par l'addition de TBAF. Cependant la présence d'atome de fluorure dans ces

conditions limite l'étendue de cette réaction, particulièrement face aux alcools protégés par un groupement silyle. En 2001, Denmark *et al.*²⁸⁰ ont montré que le TBAF peut être remplacé par le TMSOK. Ainsi la réaction entre le composé **253** et l'iodure d'aryle **254**, réalisée avec 2 équivalents de TMSOK et une quantité catalytique de palladium conduit à la formation du produit de couplage **255** avec des rendements allant de 76 % à 95 % et de temps de réaction de 15 min à 14,5 heures.

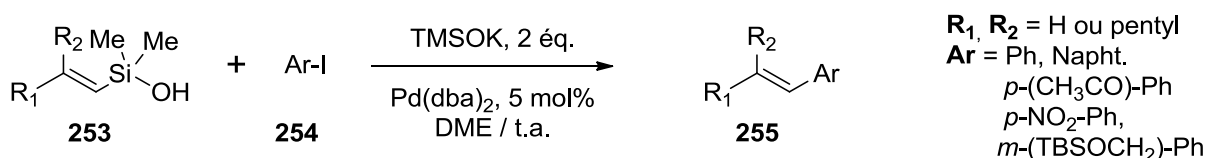


Schéma 115 : Couplage de Kumada entre **253** et **252** catalysé par le palladium en présence de TMSOK

Le TMSOK a aussi été utilisé comme base pour le couplage de Sonogashira entre l'alcyne **256** et différents iodure d'aryles **254**²⁸¹. Le couplage a lieu avec 2 équivalents de TMSOK, une quantité catalytique de palladium et de cuivre. La réaction est effectuée dans le DME à température ambiante pour donner les composés **257** avec des rendements allant de 75 % à 95 %.

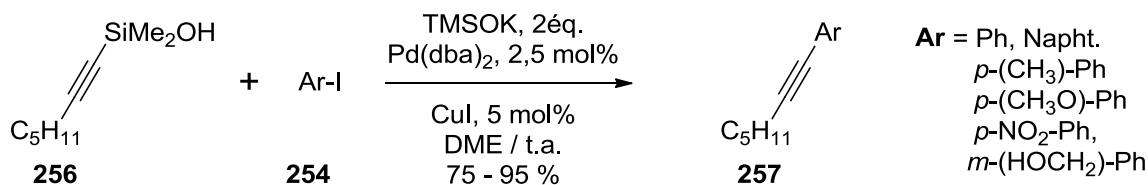


Schéma 116 : Couplage de Sonogashira entre **256** et **254** catalysé par le palladium et le Cuivre en présence de TMSOK

2.4 Double réactivité du triméthylsilanolate de sodium

2.4.1 Ouverture des iodolactones d'iridoïdes par TMSONa

Au sein de notre laboratoire, il a été montré que l'action du TMSONa sur la iodolactone **258** conduit à la formation du cyclopropane substitué **259**²⁴⁸. Le mécanisme de cette transformation commence par l'addition nucléophile d'une molécule de TMSONa sur le carbonyle conduisant au composé **260** par ouverture de la lactone. Puis une deuxième molécule de TMSONa déprotonne en α de l'aldéhyde pour former l'énolate **261** qui se réarrange en cyclopropane **259** par substitution nucléophile de l'iodure.

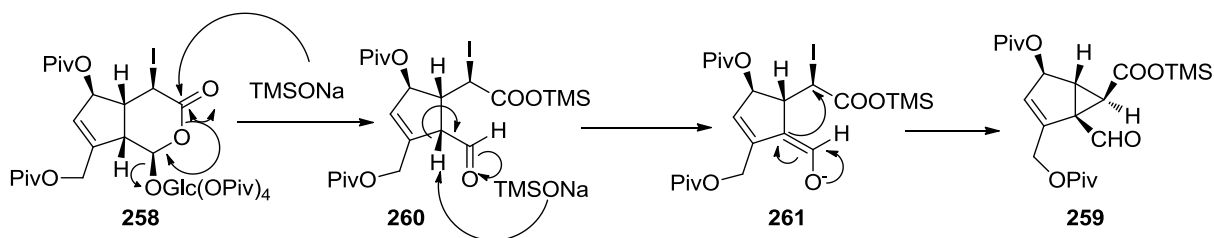


Schéma 117 : Réarrangement de la iodolactone **258** en cyclopropane par l'action de deux équivalents de TMSONa

Dans cet exemple, le TMSONa réagit à la fois comme nucléophile et comme base, à notre connaissance c'est le seul exemple qui jusqu'à présent met à profit la double réactivité du TMSONa.

Les différents exemples que nous venons de voir montrent que l'intérêt pour le TMSONa se développe. Nous pouvons cependant noter qu'il est étonnant qu'aucunes études concernant l'ouverture de lactone par le TMSONa n'aient été réalisées jusqu'à présent. Nous allons maintenant présenter les conditions que nous avons mises au point pour l'ouverture de lactone par le TMSONa.

3. Ouverture de lactones commerciales par le TMSNa

Avant d'utiliser le TMSNa pour ouvrir la lactone du sweroside (**4**) nous avons choisi de mettre au point les conditions réactionnelles sur une lactone commerciale stable : la γ -butyrolactone (**262**). Afin de valider la méthode, nous avons ensuite étendu cette réaction à une série de lactones commerciales.

3.1 Conditions réactionnelles

La réaction d'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**) par le TMSNa a été effectuée dans différents solvants anhydres (CH_2Cl_2 , THF, DMSO, DMF) et à température ambiante. Le TMSNa utilisé est une solution commerciale 1M dans le CH_2Cl_2 , et elle est directement ajoutée à la solution de lactone à température ambiante.

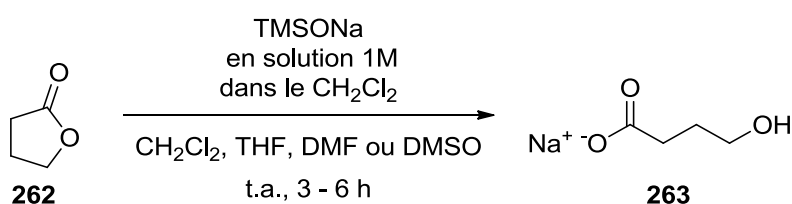


Schéma 118 : Ouverture de la γ -butyrolactone par le TMSNa dans différent solvants

Dans les conditions de concentration utilisées pour ces réactions (environ 0,5 M), le produit **263** précipite quelque soit le solvant.

La conversion de la réaction est contrôlée par RMN du brut par prélèvement d'une aliquote du milieu réactionnel qui est évaporé, puis dissous dans D_2O . Il est nécessaire d'avoir 1,2 équivalents de TMSNa pour atteindre la conversion complète.

Dans les solvants polaires et à haut point d'ébullition (DMSO, DMF) la conversion est complète après 3 heures, cependant les sels n'ont pas été isolés.

Les meilleurs résultats de rendement isolés sont obtenus avec le CH_2Cl_2 dans lequel le sel **263** (hydroxy- γ -butyrate de sodium) n'est pas soluble. Il est alors séparé par filtration, puis simplement lavé par le CH_2Cl_2 , puis le pentane pour donner après séchage sous vide le composé pur avec un rendement de 85 %.

Solvant	Conditions	nb éq. de TMSNa	Conversion (%) (RMN ^1H)	rdt (%)	temps (heures)
CH_2Cl_2	t.a.	1,0	90	75	4
CH_2Cl_2	t.a.	1,2	100	85	4
THF	t.a.	1,2	100	83	6
DMSO	t.a.	1,2	100	non isolé	3
DMF	t.a.	1,2	100	non isolé	3

Tableau 7 : Mise au point des conditions optimales d'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**)

La comparaison des données RMN avec celles de la littérature²⁸² montre que le composé isolé est bien le carboxylate de sodium **263**. La présence de l'anion carboxylate est aussi confirmée par une bande infrarouge caractéristique²⁸³ à 1555 cm⁻¹.

L'addition d'une solution aqueuse acide (HCl 10 %, NH₄Cl sat.) sur le composé **263** conduit à la reformation de la lactone. De même l'utilisation de résine acide de types IRC-50, ou Dowex pour la neutralisation du milieu, relactonise le composé **263**.

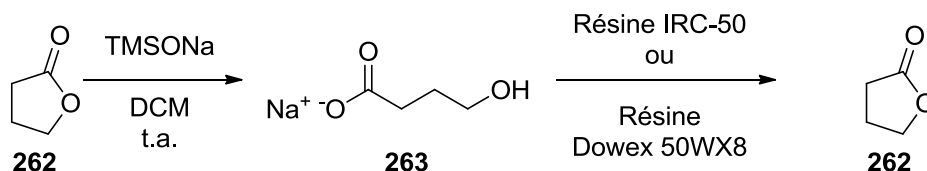


Schéma 119 : L'utilisation de résine acide pour neutraliser les hydroxy-carboxylates conduit à la relactonisation

3.2 Etendue de la réaction

Afin de valider l'étendue de la réaction d'ouverture de lactone par le TMSNa, différentes lactones ont été mises en réaction.

Les réactions sont effectuées dans le CH₂Cl₂, les sels de sodium sont isolés par filtration et purifiés par lavage par le CH₂Cl₂ et/ou le pentane.

Globalement les lactones substituées ou non en α de l'oxygène endocyclique s'ouvrent avec un temps de réaction assez court (2 h à 18 h) et avec de bons rendements. Seule la β-butyrolactone (**264**) conduit à un mélange complexe de produits, probablement de polymérisation.

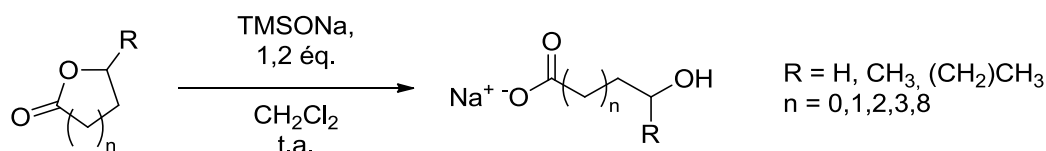


Schéma 120 : Schéma général d'ouverture des lactones

Les résultats des différentes ouvertures de lactones sont présentés dans le tableau suivant :

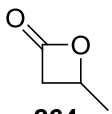
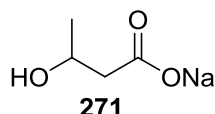
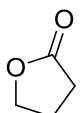
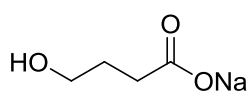
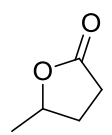
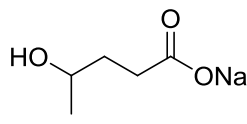
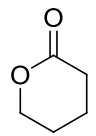
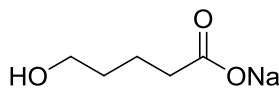
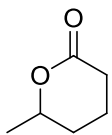
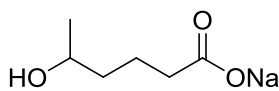
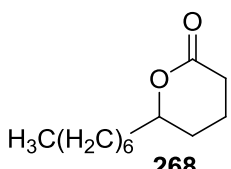
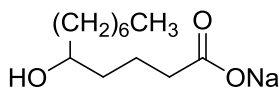
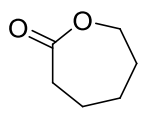
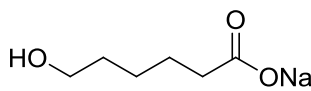
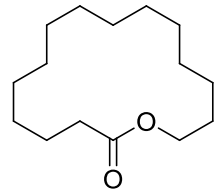
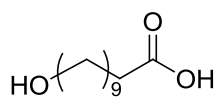
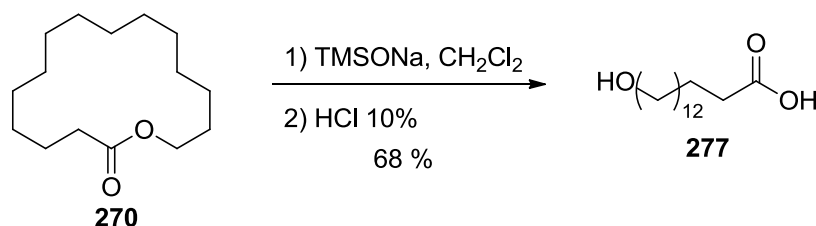
Lactones	Produits	Résultats
 264	 271	mélange de produits
 262	 263	r = 85 %
 265	 272	r = 75 %
 266	 273	r = 77 %
 267	 274	r = 86 %
 268	 275	r = 82 %
 269	 276	r = 69 %
 270	 277	r = 68 %,

Tableau 8 : Ouverture de lactones commerciales par 1,2 éq. de TMSNa

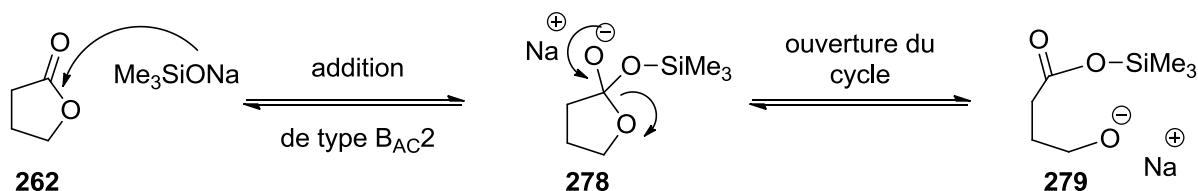
Il est à noter que dans le cas de la macrolactone **270**, l'acide carboxylique **277** est soluble dans le CH₂Cl₂. Il peut alors être isolé avec un rendement de 68 % après neutralisation par HCl et extraction par le CH₂Cl₂.

Schéma 121 : Formation de l'acide **277** par ouverture de la lactone **270** et neutralisation du sel résultant par HCl

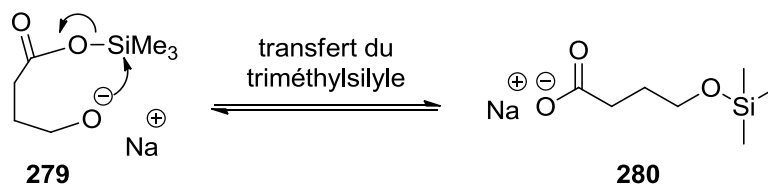
3.3 Hypothèse de mécanisme et contradiction avec les produits isolés

Concernant le mécanisme d'ouverture des lactones par le TMSNa, nous proposons le mécanisme suivant :

- 1) Attaque du carbonyle par le TMSNa selon une addition de type B_{AC}2 (intermédiaire **278**)
- 2) Ouverture du cycle de la lactone pour conduire à l'ester de triméthylsilyle **279**

Schéma 122 : Hypothèse de mécanisme conduisant à la formation de l'intermédiaire **279**

La fonction ester de silyle étant peu stable en milieu basique, nous envisageons une attaque de l'alcoolate sur le silicium, conduisant au transfert du triméthylsilyle sur l'oxygène de l'alcoolate. Ce transfert mène à l'éther de triméthylsilyle **280**, plus stable que l'ester de triméthylsilyle **279**.

Schéma 123 Formation de l'éther de triméthylsilyle **280** par transfert du silicium

Les réactions ont été réalisées dans des solvants anhydres et sous argon et en présence ou non de tamis moléculaire. Pour éviter toutes traces d'humidité, la filtration du milieu a de plus été effectuée sous argon.

Cependant, quelques soient les conditions opératoires réalisées, sans avoir effectué l'hydrolyse du milieu réactionnel, les composés isolés sont toujours les hydroxycarboxylates **263-276**. Le composé **280** n'a jamais été isolé.

Il y a donc dans le milieu des espèces qui peuvent hydrolyser l'éther de triméthylsilyle **280** *in-situ*. Pour comprendre l'origine de cette hydrolyse et valider nos hypothèses, nous avons donc effectué une étude mécanistique par RMN.

4. Etude mécanistique de l'ouverture de lactone par le TMSNa

Pour cette étude, nous avons d'abord déterminé par RMN ^1H , les différentes espèces présentes dans le milieu et celles qui se forment au cours et à la fin de la réaction. Par RMN ^1H également, nous avons déterminé l'étape cinétiquement limitante par l'étude de la cinétique réactionnelle d'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**). Enfin nous avons étudié l'influence de la substitution en α de l'oxygène cyclique sur la cinétique de la réaction.

4.1 Conditions expérimentales

Pour l'étude du mécanisme, il est nécessaire d'avoir une solubilité complète afin de pouvoir observer toutes les espèces présentes dans le milieu par RMN.

Le solvant offrant les meilleures conditions de solubilité est le DMSO. En effet pour une concentration de départ de γ -butyrolactone (**262**) égale à 0,1 M, le milieu réactionnel est entièrement solubilisé et aucune formation de précipité n'est observée au cours de la réaction.

Comme nous avons choisi d'étudier la réaction par RMN, nous avons vérifié la solubilité du milieu réactionnel dans les conditions suivantes :

- Solvant : DMSO-*d*6
- Température : 298 K
- $[\gamma\text{-butyrolactone}] \leq 0,1 \text{ M}$ soit 4,3 mg dans 500 μL de DMSO-*d*6
- $[\text{TMSNa}] \leq 0,1 \text{ M}$
- Jusqu'à 15 éq. de TMSNa pour $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0.1 \text{ M}$
- Jusqu'à 15 éq. de γ -butyrolactone pour $[\text{TMSNa}] = 0,1 \text{ M}$
- Etalon interne : chlorobenzène

Pour toutes ces études RMN, le TMSNa utilisé est le TMSNa en solution 1M dans le CH_2Cl_2 commercialisé par Aldrich. La solution de TMSNa est introduite dans un tube RMN, puis le solvant est évaporé sous vide. Après pesée de la quantité de TMSNa introduite, l'étalon interne et le DMSO-*d*6 sont ajoutés. La quantité de lactone nécessaire pour l'expérience est dissoute dans le DMSO-*d*6 et est introduite au moment de la mesure RMN.

4.2 Dosage des réactifs utilisés

4.2.1 Estimation de la quantité d'eau dans le DMSO-*d*6 par RMN ^1H

Le DMSO-*d*6 a été séché sur hydrure (CaH_2) puis distillé sous argon à pression atmosphérique à 190 °C, puis conservé sur tamis moléculaire 4 Å. Cependant il reste de l'eau dans le solvant même après distillation et en utilisant toutes les précautions expérimentales pour éviter le contact avec l'air.

Cette eau peut se trouver sous différentes formes isotopiques (H_2O , HOD , D_2O) par échange de deutérium avec le $\text{DMSO-}d_6$ ²⁸⁴.



Schéma 124 : Echange de deutérium entre l'eau et le $\text{DMSO-}d_6$

La quantité d'eau résiduelle dans le $\text{DMSO-}d_6$ a été mesurée par RMN du proton avec le chlorobenzène comme étalon interne. Afin d'effectuer des mesures quantitatives, le temps de relaxation T_1 du chlorobenzène a été mesuré ($T_1 = 14,76$ s). Le spectre ^1H est réalisé en 1 scan, la séquence d'acquisition commence avec un pulse à 90° et le temps d'acquisition de la FID est cinq fois supérieur au T_1 du chlorobenzène ($AQ = 75$ s)

Le pic à 3,30 ppm correspond à un singulet large, il comprend les protons de l'eau et le proton de HOD . Nous ne pouvons pas calculer la quantité de HOD dans ce pic, nous allons donc déterminer un intervalle entre la quantité minimale d'eau (pic d'eau = 100 % H_2O) et la quantité maximale d'eau (pic d'eau = 100 HOD). Nous ne tiendrons pas compte de la quantité de D_2O .

➤ Quantité minimale d'eau (H_2O)

En considérant que le pic d'eau observé ne contient que H_2O , la quantité minimale d'eau présente dans le $\text{DMSO-}d_6$ est donnée par la formule suivante :

$$n_{\text{eau}} = \frac{5}{2} \times \frac{S_{\text{eau}}}{S_{\text{étalon}}} \times n_{\text{étalon}} \text{ et } [\text{eau}] = \frac{5}{2} \times \frac{S_{\text{eau}}}{S_{\text{étalon}}} \times [\text{étalon}]$$

avec S_{eau} et $S_{\text{étalon}}$ les valeurs des intégrales respectives des protons de l'eau et de l'étalon, et n_{eau} et $n_{\text{étalon}}$ le nombre de moles d'eau et d'étalon dans l'échantillon.

A la figure 17, est réalisé le spectre proton du $\text{DMSO-}d_6$ en présence d'un étalon le chlorobenzène dans les conditions : $n_{\text{étalon}} = 0,0128$ mmol et $V_{\text{DMSO-}d_6} = 561,72$ μL (obtenu par pesée). Les valeurs des intégrales sont : $S_{\text{eau}} = 0,16$ pour $S_{\text{étalon}} = 1$.

La précision de la mesure par RMN est estimée avec une erreur de 10 %. Les erreurs de pesée sont négligeables.

On a donc

$$n_{\text{eau}} = 0,0051 \pm 0,001 \text{ mmol}$$

$$\text{soit } [\text{eau}] = 0,0090 \pm 0,0018 \text{ mol/L}$$

Dans les conditions de réaction où $[\gamma\text{-butyrolactone}]_0$ dans le $\text{DMSO-}d_6$ séché est de 0,1 M, la quantité minimale d'eau représente 9%_{molaire} de la quantité de lactone.

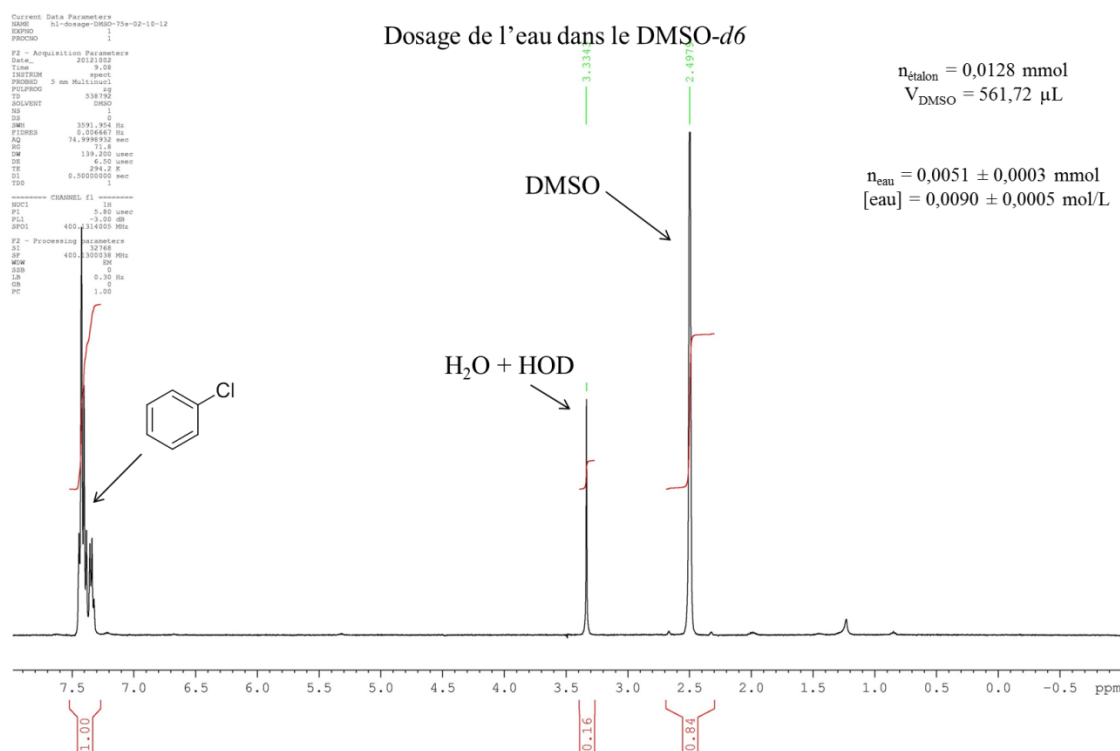


Figure 17 : Spectre ¹H du DMSO-*d*6 en présence de chlorobenzène pour le dosage de l'eau

➤ Quantité maximale d'eau (HOD)

En considérant que le pic d'eau observé ne contient que HOD, la quantité minimale d'eau présente dans le DMSO-*d*6 est donnée par la formule suivante :

$$n_{\text{eau}} = \frac{5}{1} \times \frac{S_{\text{eau}}}{S_{\text{étalon}}} \times n_{\text{étalon}} \text{ et } [\text{eau}] = \frac{5}{1} \times \frac{S_{\text{eau}}}{S_{\text{étalon}}} \times [\text{étalon}]$$

On a donc

$$n_{\text{eau}} = 0,012 \pm 0,0024 \text{ mmol}$$

$$\text{soit } [\text{eau}] = 0,0180 \pm 0,0036 \text{ mol/L}$$

Dans les conditions de réaction où $[\gamma\text{-butyrolactone}]_0$ dans le DMSO-*d*6 séché est de 0,1 M, la quantité maximale d'eau représente 18%_{molaire} de la quantité de lactone.

Dans les conditions de la réaction pour l'étude mécanistique, nous pouvons donc estimer la quantité d'eau dans le DMSO-*d*6 entre 9%_{molaire} et 18%_{molaire} avec une erreur absolue de plus ou moins 5,4%_{molaire}.

4.2.2 Dosage du TMSNa par titration acido-basique

La titration du TMSNa peut être effectuée par dosage par retour²⁵¹. Pour cela, un volume d'environ 1mL de TMSNa en solution 1M dans le CH₂Cl₂ est évaporée à sec sous vide pour donner une masse connue de TMSNa ($m_{\text{tot}} = 84,4 \text{ mg}$), le solide est alors dissous dans une solution standard de HCl

($C_{\text{HCl}} = 0,1027 \text{ mol/L}$, $V_{\text{HCl}} = 20,0 \text{ mL}$). L'excès d'acide est dosé par une solution standard de soude ($C_{\text{NaOH}} = 0,1022 \text{ mol/L}$). Le nombre de mole de base totale dans l'échantillon n_{tot} vaut alors :

$$n_{\text{tot}} = n_{\text{HCl tot}} - n_{\text{NaOH}}$$

$$n_{\text{tot}} = C_{\text{HCl tot}} \cdot V_{\text{HCl tot}} - C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{eq.}}$$

Soit x la fraction de TMSO_{Na} parmi le nombre total de mole de base, $n_{\text{TMSO}_\text{Na}}$ et n_{NaOH} , le nombre de moles de TMSO_{Na} et de soude dans l'échantillon, on a alors :

$$n_{\text{TMSO}_\text{Na}} = x \cdot n_{\text{tot}} \text{ et } n_{\text{NaOH}} = (1 - x) \cdot n_{\text{tot}}$$

La masse totale de l'échantillon est définie telle que :

$$m_{\text{tot}} = M_{\text{TMSO}_\text{Na}} \cdot n_{\text{TMSO}_\text{Na}} + M_{\text{NaOH}} \cdot n_{\text{NaOH}}$$

Après résolution de l'équation, la **fraction molaire** de TMSO_{Na} dans l'échantillon est telle que :

$$x = \frac{m_{\text{tot}} - M_{\text{NaOH}} \cdot n_{\text{tot}}}{(M_{\text{TMSO}_\text{Na}} - M_{\text{NaOH}}) \cdot n_{\text{tot}}}$$

La titration est effectuée avec l'hélianthine comme indicateur coloré²⁶³ et le volume de soude à l'équivalence est de $V_{\text{eq}} = 7,4 \text{ mL}$.

L'application numérique donne $x = 0,90 \pm 0,02$, la pureté du TMSO_{Na} est donc de 90 %_{molaire} et il contient 10 %_{molaire} de soude correspondant à une pureté massique de 96,2 %.

Ainsi dans les conditions des expériences RMN dans lesquelles la concentration globale est de 0,1 M, la concentration en TMSO_{Na} vaut $[\text{TMSO}_\text{Na}] = 0,090 \text{ M}$ et la concentration en soude $[\text{NaOH}] = 0,010 \text{ M}$.

4.2.2.a) Dosage par RMN ¹H

Nous avons aussi effectué le dosage du TMSO_{Na} par RMN. Dans ce cas la soude n'est pas visible sur le spectre RMN, mais le dosage s'effectue en mesurant la concentration de TMSO_{Na}. Pour cela un volume d'environ 50 μL de TMSO_{Na} en solution 1M dans le CH_2Cl_2 est introduit dans un tube RMN et est évaporée à sec sous vide pour donner une masse connue ($m_{\text{tot}} = 4,69 \text{ mg}$). Le chlorobenzène ($m_{\text{étalon}} = 3,12 \text{ mg}$, $n_{\text{étalon}} = 0,0278 \text{ mmol}$) puis le DMSO-*d*₆ (533,46 mg soit 484,96 μL) sont ensuite ajoutés dans le tube. Le spectre de la figure 18 a été réalisé dans les mêmes conditions que précédemment (pulse à 90 °C, 1 scan, AQ = 75 s).

Soit $S_{\text{TMSO}_\text{Na}}$ et $S_{\text{étalon}}$ les valeurs respectives des intégrations des protons du TMSO_{Na} et de l'étalon, et soit $n_{\text{TMSO}_\text{Na}}$ et $n_{\text{étalon}}$ les nombres de moles d'eau et d'étalon dans l'échantillon.

On a alors :

$$n_{\text{TMSO}_\text{Na}} = \frac{5}{9} \times \frac{S_{\text{TMSO}_\text{Na}}}{S_{\text{étalon}}} \times n_{\text{étalon}}$$

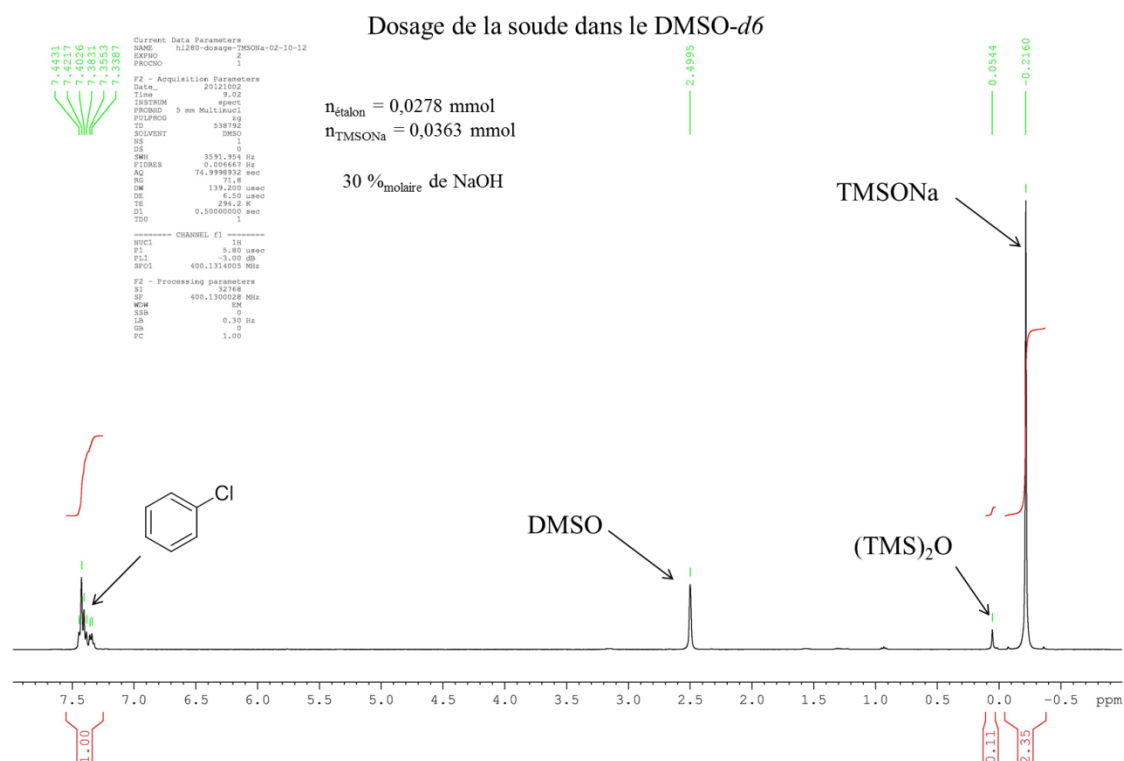
Et d'après les équations précédentes, la fraction en TMSO_{Na} dans l'échantillon est donnée par l'équation :

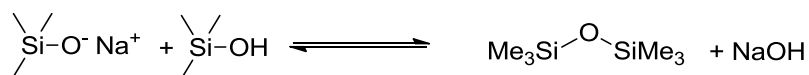
$$x = \frac{M_{\text{NaOH}} \cdot n_{\text{TMSO}_\text{Na}}}{m_{\text{tot}} + (M_{\text{NaOH}} - M_{\text{TMSO}_\text{Na}}) \cdot n_{\text{TMSO}_\text{Na}}}$$

Sur le spectre de la figure 18, $S_{\text{étalon}} = 1$ et $S_{\text{TMSNa}} = 2,35$, d'où $n_{\text{TMSNa}} = 0,0363$ mmol, soit $x = 0,70$. La précision de la RMN étant de $\pm 5\%$ et les erreurs de mesures expérimentales de $\pm 2\%$, on a :

$$x = 0,70 \pm 0,07$$

Soit une pureté de 70 %_{molaire} pour le TMSNa contenant 30 %_{molaire} de NaOH correspondant à une pureté massique de 86 %.




 Schéma 126 Formation du (TMS)₂O par réaction entre TMSOH et le TMSONa

Ainsi la différence de 20 % observée correspond à la quantité d'eau sous toutes ses formes isotopiques qui a réagi avec le TMSONa.

D'où $n_{\text{eau totale}} = 20 \% \times n_{\text{TMSONa}} = 0,0072 \text{ mmol}$ et $C_{\text{eau totale}} = 0,0150 \text{ mol/L}$

Ainsi dans les conditions des expériences RMN dans lesquelles la concentration globale des réactifs est de 0,1 M, la quantité d'eau (H₂O, HOD, D₂O) représente 15 %_{molaire}. Cette valeur se trouve bien dans l'intervalle de la quantité d'eau précédemment mesurée dans le DMSO-*d*6 (9-18%_{molaire}).

4.2.3 Estimation de la quantité d'eau dans la γ -butyrolactone par RMN ¹H

La quantité d'eau dans la γ -butyrolactone (**262**) a été mesurée par RMN ¹H dans le DMSO-*d*6. Pour la concentration en eau dans le DMSO-*d*6, nous utiliserons la valeur de 0,0150 mol/L, obtenue dans la partie précédente. La γ -butyrolactone (**262**) est un liquide hygroscopique, elle est d'abord distillée à pression atmosphérique à 204°C puis est introduite dans un tube RMN avec le chlorobenzène comme étalon. La mesure est effectuée dans les conditions précédentes.

Le spectre ¹H réalisé dans le DMSO-*d*6 de la figure 19 représente le dosage de l'eau dans la butyrolactone dans les conditions : $m_{\text{Lactone}} = 4,51 \text{ mg}$, $n_{\text{étalon}} = 0,0101 \text{ mmol}$ et $V_{\text{DMSO}} = 486,19 \text{ }\mu\text{L}$, la valeur de $S_{\text{eau-Tot}} = 0,44$; d'où $n_{\text{eau-Tot}} = 0,0111 \text{ mmol}$ et comme $[\text{eau}]_{\text{DMSO}} = 0,015 \text{ mol/L}$,

$$n_{\text{eau ds Lactone}} = n_{\text{eau Tot}} - [\text{eau}]_{\text{DMSO}} \cdot V_{\text{DMSO}} = 0,0028 \text{ mmol}$$

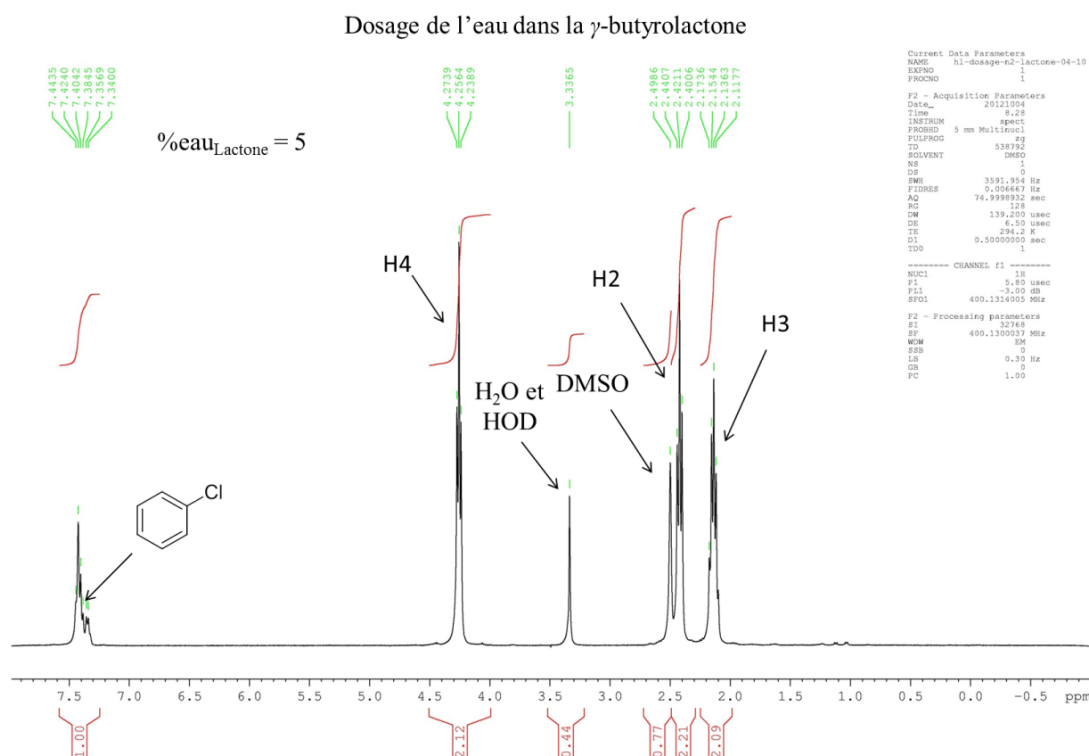


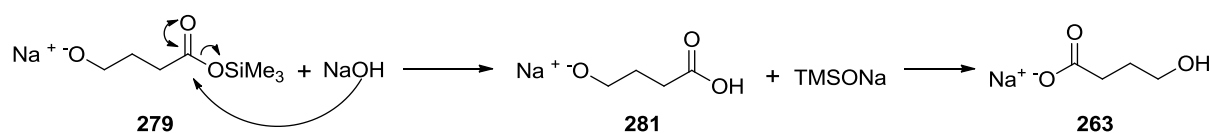
Figure 19 : Spectre 1H de la γ -butyrolactone (**262**) dans le DMSO- d_6 en présence de chlorobenzène pour le dosage de l'eau

Le pourcentage molaire moyen de l'eau dans la lactone est donc $\%eau_{Lactone} = (5 \pm 2) \%$.

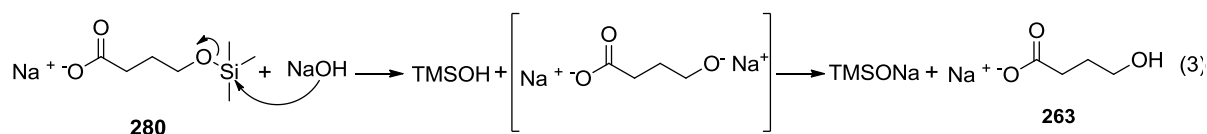
Ces dosages montrent que milieu réactionnel contient 10 %_{molaire} de soude et environ $(20 \pm 7)\%$ _{molaire} d'eau. Ces valeurs sont des estimations. Un dosage de l'eau dans le DMSO- d_6 par la méthode de Karl-Fischer permettrait d'avoir une plus grande précision, sans se soucier des formes isotopiques de l'eau.

Cependant la soude et l'eau sont présentes dans le milieu et peuvent intervenir dans le mécanisme de la réaction, empêchant l'observation d'espèces instables. C'est certainement pourquoi nous observons directement la formation de l'hydroxy- γ -butyrate de sodium (**263**) sans voir les espèces intermédiaires comme **279** ou **280** qui peuvent être hydrolysés par la soude.

Dans le cas de l'intermédiaire **279**, l'hydrolyse par la soude conduirait à l'alcoolate **281**. Le pKa de l'alcoolate (pKa ≈ 28)²⁸⁵ étant plus élevé que celui de l'acide carboxylique (pKa ≈ 12)²⁸⁶, le composé **263** serait formé très rapidement ($K = 10^{16}$).


 Schéma 127 : Formation du composé **263** à partir de l'intermédiaire **279**

Dans le cas de l'intermédiaire **280**, l'hydrolyse par la soude de l'éther silylé conduirait directement au composé **263**.


 Schéma 128 : Formation du composé **263** à partir de l'intermédiaire **280**

Ayant quantifié les impuretés dans le TMSONa et le DMSO-*d*₆ nous allons maintenant identifier les espèces observées en RMN ¹H et ¹³C pendant la réaction.

4.3 Espèces observées par RMN au cours de la réaction

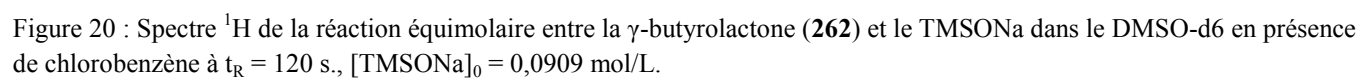
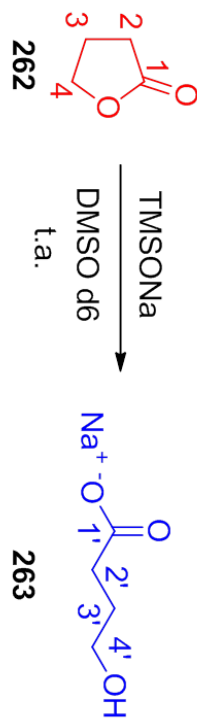
Lors du suivi de la réaction par RMN ¹H selon les conditions décrites page 102, nous observons la disparition de la lactone et la formation d'un nouveau produit. Les déplacements chimiques de ce produit correspondent bien aux valeurs de déplacements chimiques de l'hydroxy- γ -butyrate de sodium (**263**) décrites dans la littérature dans le même solvant. Nous n'observons donc pas d'intermédiaire dans le milieu réactionnel. De plus l'analyse du milieu par spectrométrie de masse ne montre pas les composés **279** ou **280**. Enfin l'analyse HMBC ¹H-²⁹Si ne montre aucune corrélation entre le silicium et les protons H4 du produit observé.

Concernant les espèces silylées, nous observons la disparition du TMSONa, la formation de (TMS)₂O et de TMSOH. Comme pour le (TMS)₂O, la présence de TMSOH a été confirmée par l'ajout dans le tube RMN du produit commercial et par comparaison avec les déplacements chimiques des protons et des carbones du composé pur. Le tableau suivant montre les différents déplacements chimiques des espèces présentes dans le milieu.

Composés	Déplacement chimique ^1H dans le DMSO- <i>d</i> 6 (ppm)			Déplacement chimique ^{13}C dans le DMSO- <i>d</i> 6 (ppm)			
γ -butyrolactone (262) commerciale	H4 : 4,26	H2 : 2,43	H3 : 2,15	C1 : 178,3	C4 : 68,7	C2 : 27,8	C3 : 22,2
263 observé <i>in-situ</i>	H4 : 3,39	H2 : 2,01	H3 : 1,56	C1 : 178,1	C4 : 62,3	C2 : 36,6	C3 : 29,2
263 isolé	H4 : 3,37	H2 : 2,07	H3 : 1,59	C1 : 178,1	C4 : 62,3	C2 : 36,6	C3 : 29,2
TMSNa commercial	$(\underline{\text{CH}}_3)_3 : -0,21$			$(\underline{\text{CH}}_3)_3 : 5,6$			
TMSOH commercial	$(\underline{\text{CH}}_3)_3 : 0,01$			$(\underline{\text{CH}}_3)_3 : 1,8$			
TMSOTMS commercial	$2 \times (\underline{\text{CH}}_3)_3 : 0,05$			$(\underline{\text{CH}}_3)_3 : 2,1$			

Tableau 9 : Déplacements chimiques des composés présents dans le milieu réactionnel

Sur le spectre de la figure 20, nous pouvons observer les différentes espèces présentes dans le milieu. Il a été réalisé 120 secondes après l'ajout de la γ -butyrolactone (**262**) sur le TMSNa dans le DMSO-*d*6 dans des conditions équimolaires telles que $[\gamma\text{-butyrolactone}] = [\text{TMSNa}] = 0,0909 \text{ mol/L}$.



Nous observons aussi un singulet très large vers 3,9 ppm. Ce singulet très large diminue au cours du temps et se déplace vers les champs plus faibles, ce singulet est identifié comme des protons issu du OH de l'eau ou du TMSOH. En effet lorsque H₂O ou du TMSOH sont ajoutés au milieu, l'intégration de ce singulet augmente.

ZOOM sur la région 4,62 – 3,7 ppm
lors du suivie de la réaction 1 éq. TMSNa + 1 éq. γ -butyrolactone

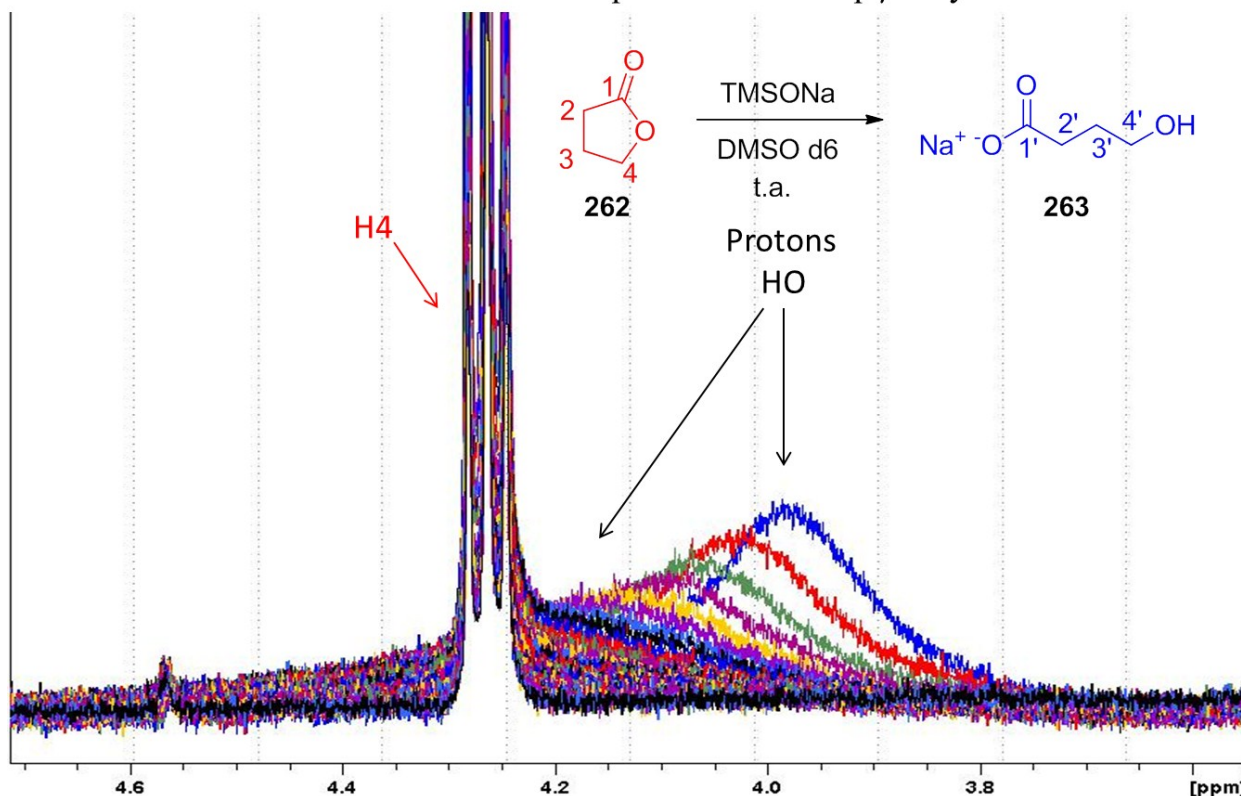


Figure 21: Superposition des spectres ¹H réalisés lors du suivi de la réaction équimolaire entre le TMSNa et la γ -butyrolactone (262).

4.4 Liste des pKa des espèces présentes dans le milieu

Afin de comprendre les différentes étapes du mécanisme, il est nécessaire de connaître les différents pKa des espèces repérées au cours de la réaction.

Le pKa de l'acide acétique dans le DMSO est de 12,6²⁸⁷ par comparaison avec cette valeur, nous pouvons estimer le pKa de l'acide carboxylique de **263** à environ 12-13. De même nous estimons la valeur du pKa de l'hydroxyle de **263** à environ 28 à partir de la valeur du pKa de l'éthanol dans le DMSO (pKa = 28,9²⁸⁵). Le pKa du couple TMSOH / TMSNa mesuré par infrarouge est de 12,7^{253,288} et le pKa du Ph₃SiOH dans le DMSO est de 16,6. Les arylsilanols étant plus acide que les alkylsilanols, le pKa du TMSOH dans le DMSO est d'au moins 17²⁵³.

Le pKa du proton en C2 de la γ -butyrolactone (**262**) est d'environ 25²⁸⁹ dans le DMSO. Enfin le pKa de l'eau dans le DMSO est de 31,4²⁸⁵ et celui du DMSO de 35²⁹⁰.

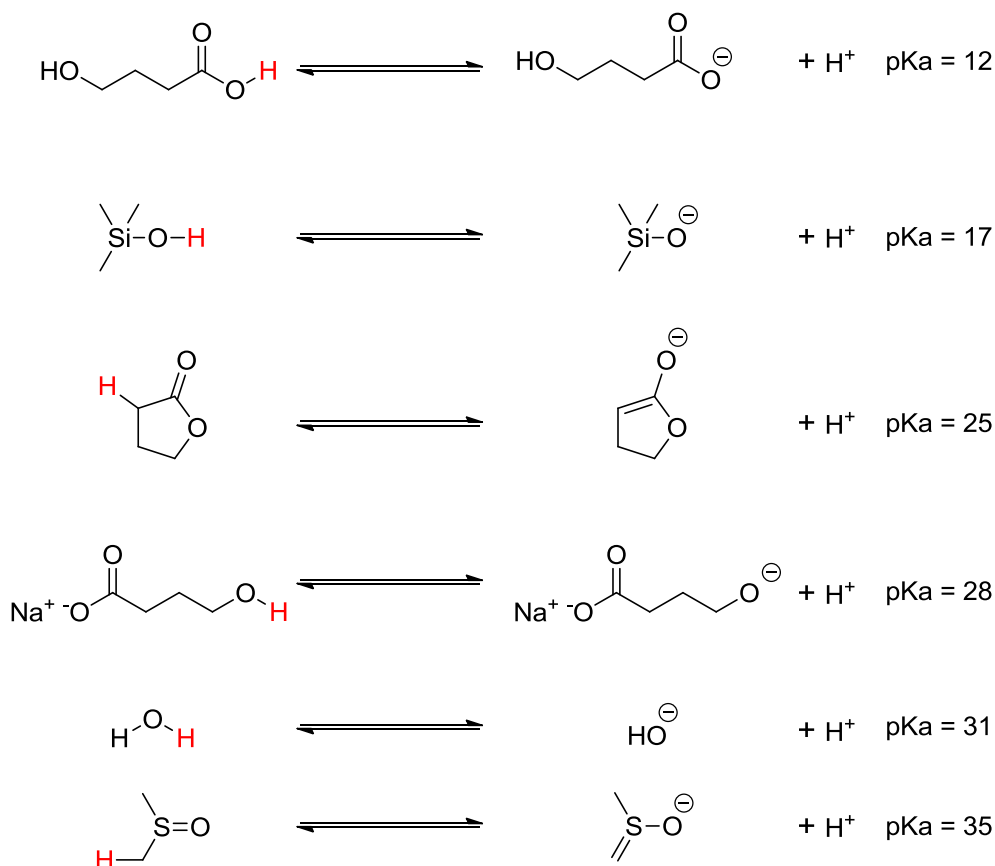


Schéma 129 : pKa dans le DMSO des différentes espèces présentes dans le milieu

Ces valeurs de pKa montrent qu'il est très difficile de déprotéger le DMSO par le TMSONa, en effet la constante d'équilibre de cette réaction est de 10^{-25} . Cette réaction n'est d'ailleurs pas observée lorsque le TMSONa est en solution dans le DMSO-*d*6

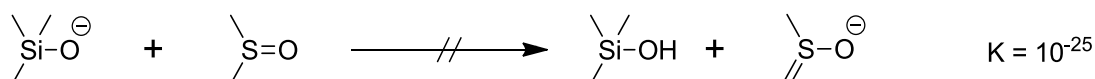
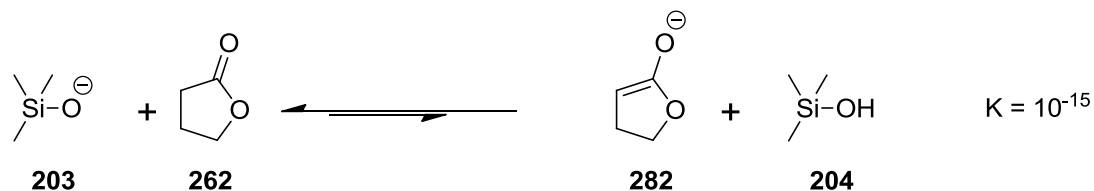
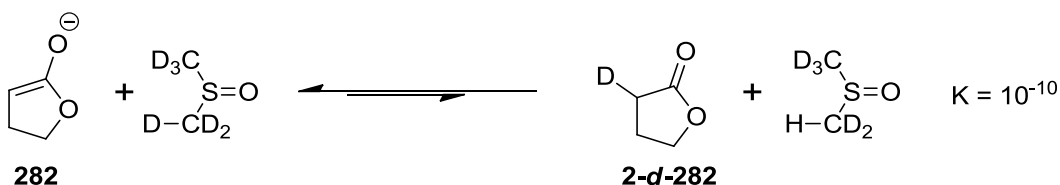


Schéma 130 : La réaction entre le TMSONa et le DMSO n'est pas observée

La réaction de déprotonation de la γ -butyrolactone (**262**) par le TMSONa est aussi peu favorable, cependant avec une constante d'équilibre de 10^{-15} , des traces de **282** peuvent être présentes dans le milieu.


 Schéma 131 : Réaction de déprotonation en α du carbonyl de la γ -butyrolactone (**262**) par le TMSONa

La déprotonation du DMSO-*d*6 par l'énolate **282** est quant à elle peu favorisée avec une constante d'équilibre de 10^{-10} .



Même si cette réaction est peu favorisée, le DMSO-*d*6 peut échanger un deutérium avec le proton acide en α du carbonyle de la lactone ou du composé **263**. C'est effectivement ce que nous observons au cours de la réaction, en effet, l'intégration du proton H2 de la γ -butyrolactone (**262**) et de l'hydroxy- γ -butyrate de sodium (**263**) diminue par rapport aux autres protons de la même molécule. En fin de réaction à température ambiante, l'intégration du signal à 2,4 ppm correspond à 70 % des protons H2. Lorsque le milieu réactionnel est chauffé à 70°C pendant deux jours, plus de 95 % de deutération sur le carbone C2 de la γ -butyrolactone (**262**) sont observés. La deutération est confirmée par une modification du couplage du proton H3. En effet, pour la γ -butyrolactone (**262**), le proton H3 résonne sous forme de quintuplet ($^3J_{3-2} = ^3J_{3-4} = 6,5$ Hz), alors qu'il résonne sous forme de triplet dans la 2-*d*- γ -butyrolactone ($^3J_{3-4} = 6,5$ Hz), le couplage avec les protons H2 ayant disparu.

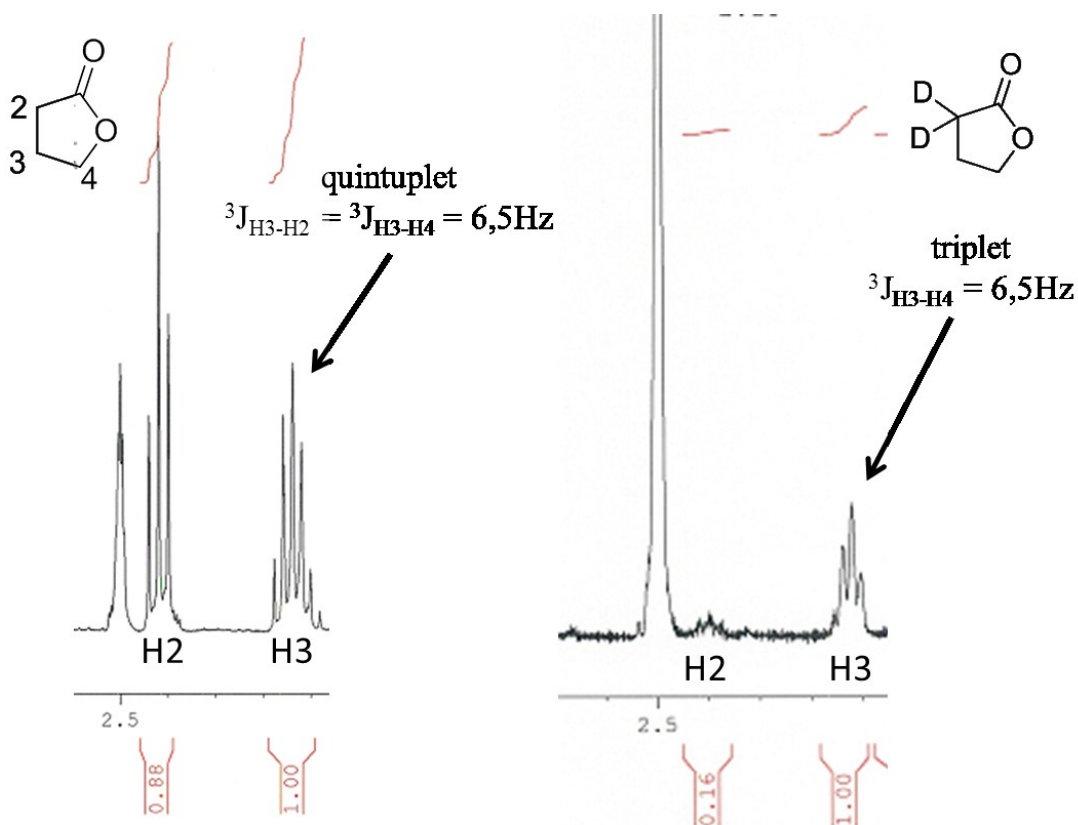


Figure 22 : Comparaison du couplage de H3 avant et après deutération

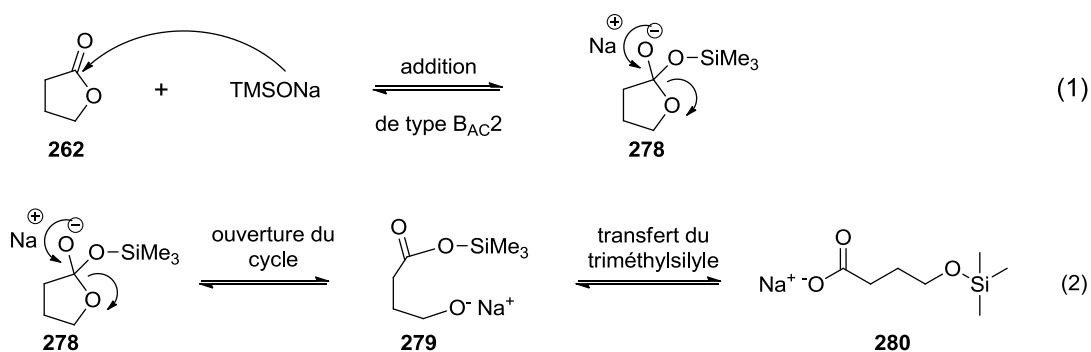
Ces observations montrent que nous ne pouvons pas utiliser l'intégration des protons H2 de γ -butyrolactone (**262**) et de l'hydroxy- γ -butyrate de sodium (**263**) pour calculer les concentrations respectives de ces deux composés.

4.5 Etude cinétique

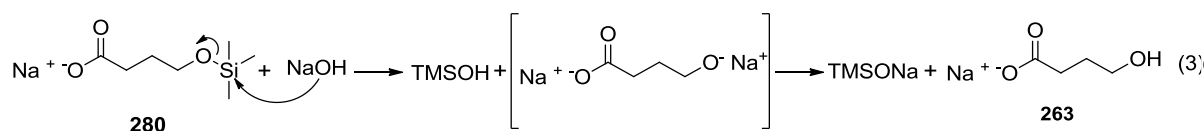
Dans cette partie nous allons effectuer une étude cinétique de la réaction afin de vérifier notre proposition de mécanisme.

4.5.1 Hypothèse mécanistique et équation bilan

D'après les hypothèses de la partie 3.3 page 101, la première étape est l'addition du TMSONa sur le carbonyle suivi de l'ouverture de la lactone puis du transfert du triméthylsilyle pour conduire au composé **280**.



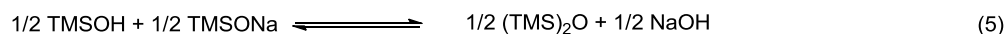
Comme nous n'observons pas le composé **280** dans le milieu réactionnel, nous pouvons envisager l'attaque d'un équivalent de soude présente dans le milieu sur **280** pour former irréversiblement le composé **263** et un équivalent de TMSONa.



C'est alors qu'un demi-équivalent d'eau présente dans le milieu peut réagir avec le TMSONa pour former un demi-équivalent de TMSOH et de NaOH.



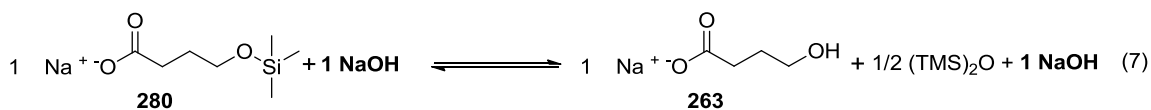
Or nous avons vu que le TMSOH et le TMSONa réagissent ensemble pour former du $(\text{TMS})_2\text{O}$ et du NaOH. A partir des produits issus de l'équation (4), cette réaction a lieu sur une demi-mole de TMSONa et de TMSOH selon l'équation (5) :



Ainsi l'équation (4) se simplifie par l'équation suivante :



En reprenant l'équation (3) avec l'équation (6), nous obtenons l'équation (7). Dans cette équation la soude apparait comme réactif et comme produit :



Ainsi la soude jouerait un rôle catalytique et seulement une demi-mole d'eau serait nécessaire pour la formation du composé **263** selon l'équation bilan suivante :



Le dosage des différents réactifs et du solvant ont permis de montrer que le milieu réactionnel contient 9 %_{molaire} de soude et 20 %_{molaire} d'eau. Ces quantités peuvent expliquer la réaction (8). Nous allons maintenant vérifier que ce n'est pas la soude qui ouvre la lactone. Nous effectuerons ensuite l'étude de l'équation cinétique afin de déterminer si la première étape d'addition du TMSNa sur le carbonyle (équation (1)) est l'étape cinétiquement déterminante.

4.5.2 Influence du NaOH sur la vitesse d'ouverture de la γ -butyrolactone

Afin de vérifier que ce n'est pas le NaOH qui est responsable de l'ouverture rapide de la γ -butyrolactone, nous allons comparer les temps de demi-réaction de cette ouverture en conditions équimolaires avec le TMSNa et avec la soude.

4.5.2.a) Temps de demi-réaction entre le TMSNa et la γ -butyrolactone en conditions équimolaires

Le suivi de la réaction équimolaire entre le TMSNa et la γ -butyrolactone (**262**) a été effectué par RMN ^1H . La concentration initiale de $[\gamma\text{-butyrolactone}]_0 = 0,0909 \text{ M}$. Pour cette expérience, nous avons considéré que le TMSNa commercial en solution à 1M était pur. Les mesures de concentration sont effectuées à partir d'un étalon interne (chlorobenzène). La concentration de la lactone a été calculée à partir de l'intégration du proton H4 à 4,26 ppm.

La réaction a lieu dans le tube RMN et un spectre ^1H d'un scan est effectué toutes les 60 secondes.

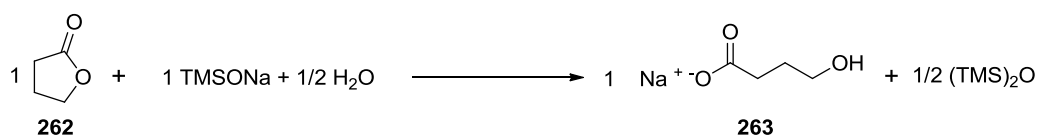


Schéma 133 : Réaction d'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**) par le TMSNa en conditions équimolaires

Le temps de demi-réaction ($t_{1/2}$) est atteint lorsque

$$[\gamma\text{-butyrolactone}] = \frac{[\gamma\text{-butyrolactone}]_0}{2} = 0,0454\text{ M}$$

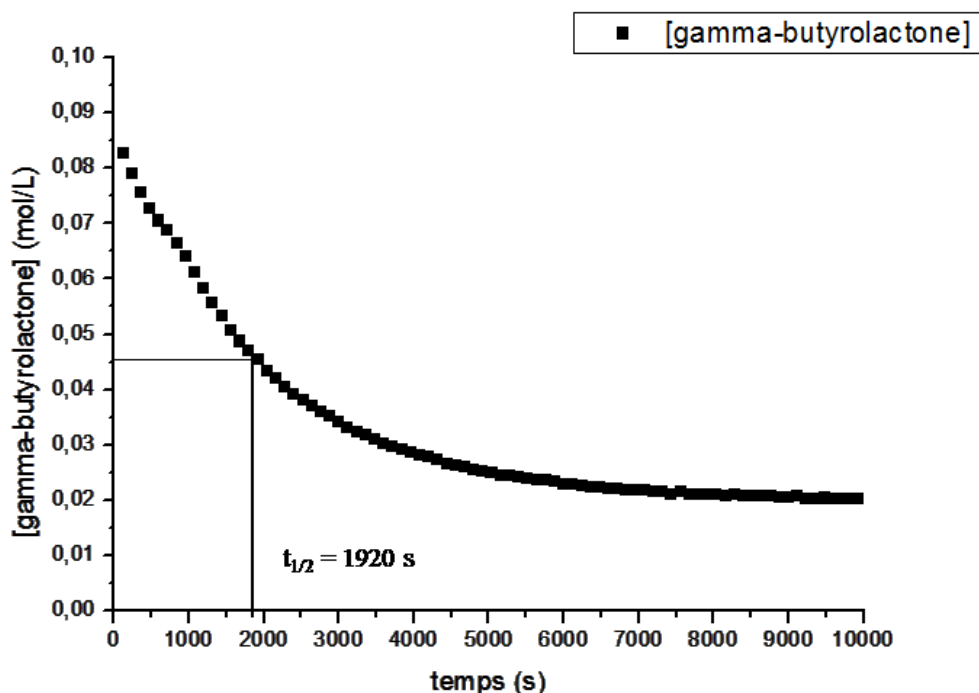


Figure 23 : Suivi cinétique de l'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**) par le TMSNa en conditions équimolaires. D'après la courbe Figure 25 le temps de demi-réaction vaut $t_{1/2-\gamma\text{-butyrolactone}} = 1920\text{ s}$, soit 32 minutes. En fin de réaction, on observe que la conversion est de 80%, correspondant bien à la pureté du TMSNa précédemment dosé.

4.5.2.b) Temps de demi-réaction entre le NaOH et la γ -butyrolactone en conditions équimolaires

Le suivi de la réaction avec la soude est effectué dans les mêmes conditions qu'avec le TMSNa.

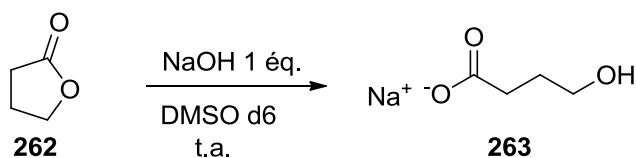


Schéma 134 : Ouverture de la γ -butyrolactone (**262**) par le NaOH

Sur la courbe suivante nous pouvons observer que le temps de demi-réaction n'est toujours pas atteint après plus de 12 heures (45000 s) de suivi. En ce point, la concentration en γ -butyrolactone (**262**) est de 0,0712 M soit une conversion de seulement 21,6 %.

Suivis des réactions d'ouverture de la γ -butyrolactone par le TMSNa et le NaOH

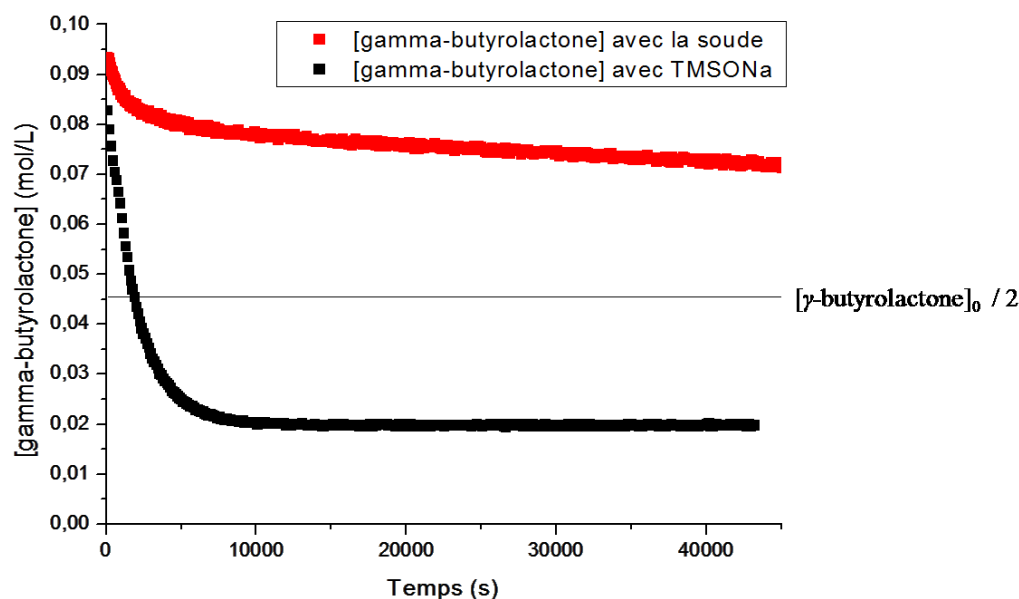


Figure 24 : Comparaison des suivis cinétique de l'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**) par le TMSNa et le NaOH en conditions équimolaires

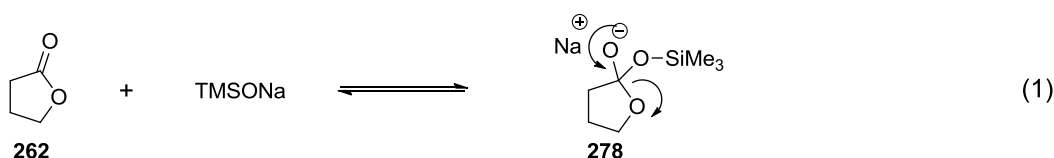
Cela montre que $t_{1/2-\text{NaOH}} \gg t_{1/2-\text{TMSNa}}$. Par conséquent nous pouvons conclure que l'ouverture de la γ -butyrolactone a bien lieu par l'action du TMSNa et non pas par l'action du NaOH.

4.5.3 Equation cinétique

L'étude cinétique de l'ouverture de la γ -butyrolactone (**262**) a été effectuée à température ambiante. Pour déterminer l'ordre de chacun des réactifs et l'ordre global de la réaction nous avons mesuré la vitesse de réaction à différentes concentrations de réactifs en se plaçant dans l'hypothèse du pseudo-premier ordre.

4.5.3.a) Théorie

Nous posons comme hypothèse que la réaction cinétiquement déterminante est la première étape définie par la réaction (1) :

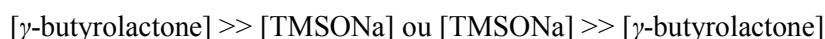


Selon cette hypothèse, la vitesse globale de la réaction est définie selon l'équation suivante :

$$\frac{d[\gamma - \text{butyrolactone}]}{dt} = -k \cdot [\gamma - \text{butyrolactone}] \cdot [\text{TMSNa}]$$

Où k est la constante de vitesse de la réaction en $\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$

Lorsqu'on se place dans l'hypothèse de pseudo premier ordre on a alors :



Dans le cas où $[\gamma\text{-butyrolactone}] \gg [\text{TMSNa}]$ l'équation de vitesse de la réaction se simplifie ainsi :

$$\frac{d[\gamma\text{-butyrolactone}]}{dt} = -k' \cdot [\gamma\text{-butyrolactone}] \text{ avec } k' = k \cdot [\text{TMSNa}]$$

Après intégration on a :

$$[\gamma\text{-butyrolactone}] = [\gamma\text{-butyrolactone}]_0 \cdot e^{-k't}$$

Ainsi en se plaçant dans l'hypothèse du pseudo premier ordre, le suivi de la concentration en γ -butyrolactone (**262**) en fonction du temps permet d'obtenir la valeur de k' pour une concentration donnée en TMSNa. Cette expérience est répétée pour plusieurs valeurs de la concentration en TMSNa. Le tracé de la courbe représentant les valeurs de k' en fonction de la concentration de TMSNa doit donner une droite d'équation :

$$k' = k \cdot [\text{TMSNa}]$$

Le coefficient directeur de la droite est donc la constante de vitesse de la réaction.

Cette étude doit aussi être effectuée en excès de γ -butyrolactone (**262**). L'évolution de la concentration en TMSNa selon l'équation :

$$[\text{TMSNa}] = [\text{TMSNa}]_0 \cdot e^{-k't}$$

Suivant la même méthode la droite d'équation :

$$k' = k \cdot [\gamma\text{-butyrolactone}]$$

est tracée et la valeur du coefficient directeur est comparé avec la valeur de k obtenu précédemment. Si les deux valeurs de k sont identiques, l'équation cinétique est validée et l'addition du TMSNa sur la lactone est l'étape limitante.

4.5.3.b) Conditions expérimentales

Afin de se placer dans l'hypothèse du pseudo premier ordre, il a été choisi de travailler sur une gamme de 5 éq. à 15 éq. d'excès d'un réactif par rapport à l'autre. Il est difficile de travailler avec un excès plus grand, en effet la réaction est alors trop rapide et le temps nécessaire pour la première mesure est trop long. Le premier point obtenu est alors trop loin de la concentration initiale pour que la courbe fournisse des résultats significatifs.

Les mesures de concentration sont effectuées à partir d'un étalon interne (chlorobenzène), pour la détermination de l'ordre de TMSNa, la concentration de la lactone a été calculée à partir de l'intégration du proton H4 à 4,26 ppm.

Pour la détermination de l'ordre de la lactone, la concentration de TMSNa a été calculée à partir de l'intégration des groupements méthyles. La réaction a lieu dans le tube RMN et un spectre ^1H d'un scan est effectué toutes les 60 secondes. La réaction est suivie jusqu'à complétion.

4.5.3.c) Suivi de la réaction avec un excès de TMSNa

Les suivis des réactions sont effectués pour 5, 7, 11, 13 et 15 équivalents de TMSNa. Les courbes obtenues sont présentées ci-dessous. Elles ont été tracées par le logiciel OriginPro, les coefficients dans le tableau représentent :

- A1 : La concentration initiale calculée en γ -butyrolactone (**262**)
- t1 : l'inverse du coefficient de vitesse observé : $1/k'$
- La constante vitesse de la réaction observée est donc obtenue par l'opération $k' = 1/t1$

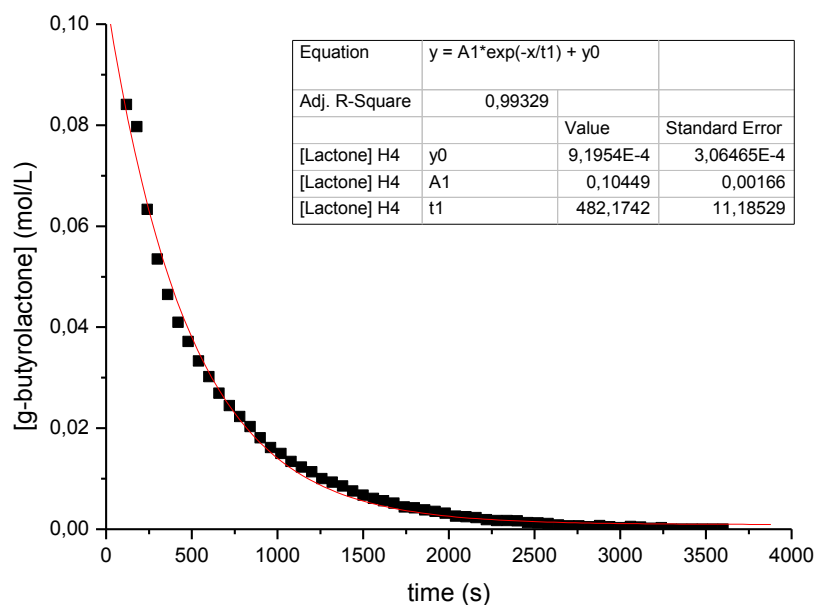


Figure 25 : Courbe de la disparition de γ -butyrolactone (**262**) en réaction avec 5 éq. de TMSNa tel que $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,0909 \text{ M}$ et $[\text{TMSNa}] = 0,4545 \text{ M}$.

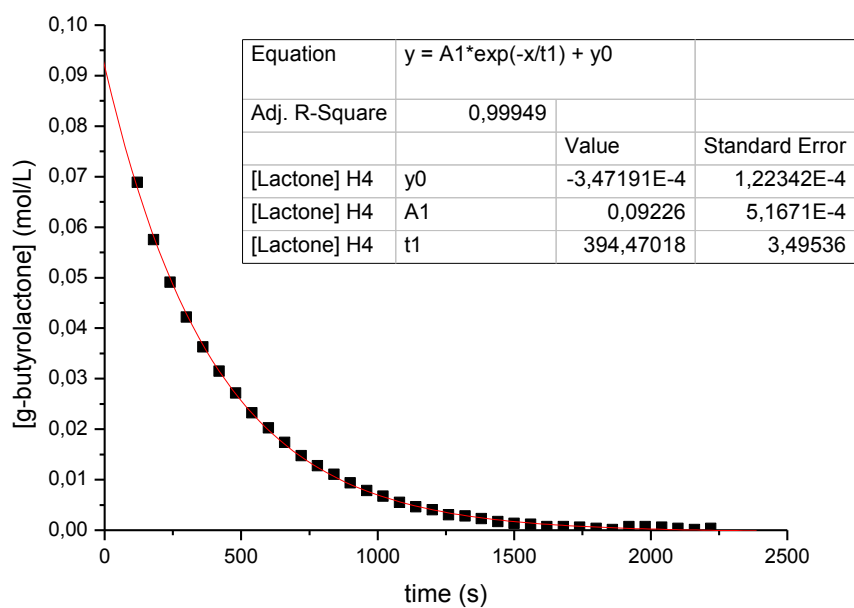


Figure 26 : Courbe de la disparition de γ -butyrolactone (**262**) en réaction avec 7 éq. de TMSONa tel que $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,0909 \text{ M}$ et $[\text{TMSONa}] = 0,6364 \text{ M}$

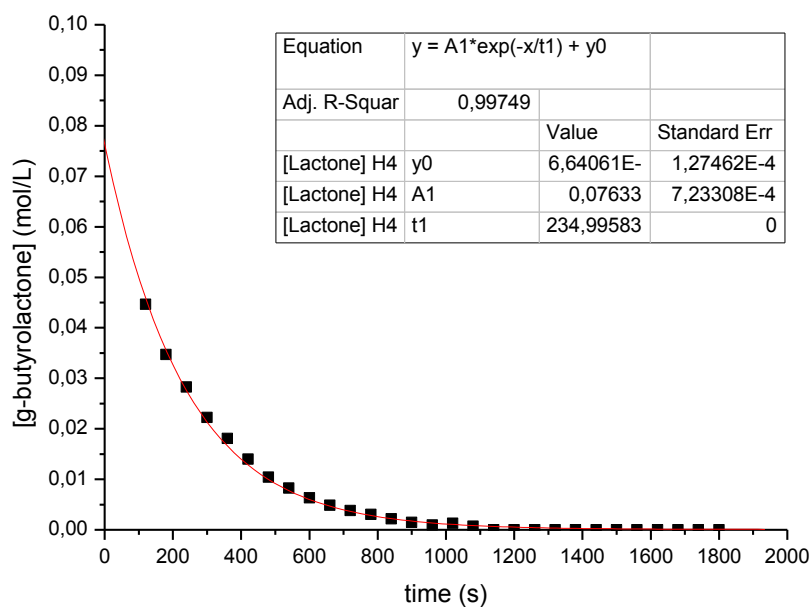


Figure 27 : Courbe de la disparition de γ -butyrolactone (**262**) en réaction avec 11 éq. de TMSONa tel que $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,0909 \text{ M}$ et $[\text{TMSONa}] = 1,0000 \text{ M}$

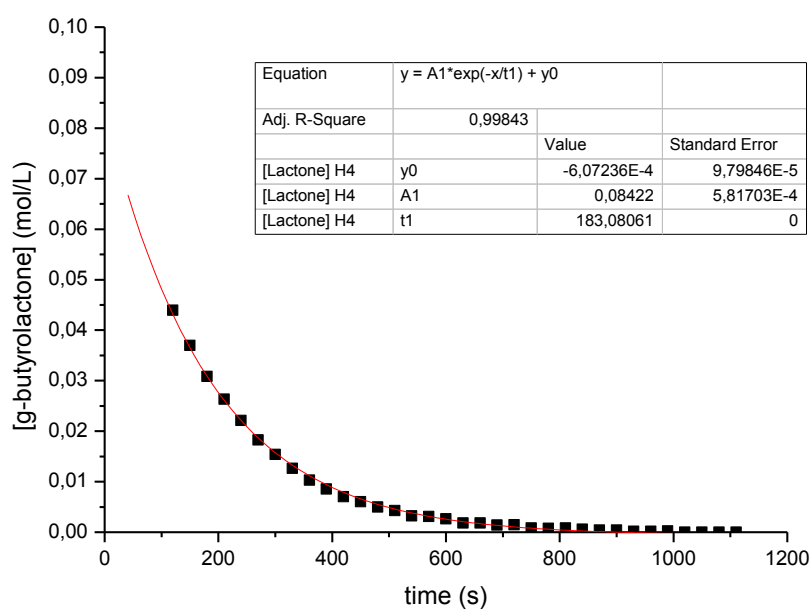


Figure 28 : Courbe de la disparition de γ -butyrolactone (**262**) en réaction avec 13 éq. de TMSNa tel que $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,0909 \text{ M}$ et $[\text{TMSNa}] = 1.1818 \text{ M}$

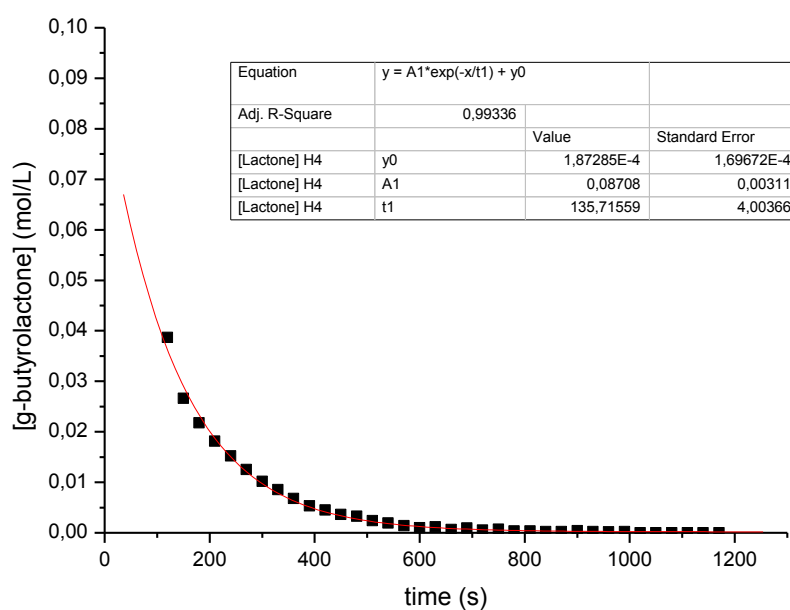


Figure 29 : Courbe de la disparition de γ -butyrolactone (**262**) en réaction avec 15 éq. de TMSNa tel que $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,0909 \text{ M}$ et $[\text{TMSNa}] = 1.3636 \text{ M}$

Nous pouvons observer que la précision de la valeur de $[\gamma\text{-butyrolactone}]_0$ calculée par le logiciel de calcul diminue lorsque le nombre d'équivalents augmentent. Cela est dû à la vitesse de réaction qui

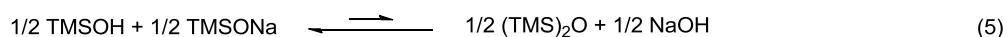
devient trop rapide par rapport au temps nécessaire pour effectuer l'acquisition de la première mesure. Cependant cela n'affecte pas la valeur de k' calculée.

4.5.4 Suivi de la réaction avec un excès de lactone

Lorsque la réaction est effectuée avec un excès de lactone, le suivi de la réaction est réalisé par l'intégration des protons $-(CH_3)_3$ sur le TMSNa. Cependant nous pouvons observer un phénomène de déblindage progressif et régulier du déplacement chimique de ces protons au cours du temps. Lorsque la réaction n'évolue plus, la concentration en produit formé **263** est équivalente à celle du TMSNa engagé.

A ce stade, un signal résiduel correspondant au TMSOH est observé et reste constant à une valeur d'environ 0,017 à 0,02 mol/L de TMSOH, correspondant à la quantité de soude présente initialement dans le milieu réactionnel.

La formation de ce TMSOH résiduel peut être expliquée par la réaction suivante :



En effet en fin de réaction la concentration de soude est maximale alors que la concentration de TMSNa est quasi-nulle. Cela entraîne un déplacement de l'équilibre vers la formation de TMSOH.

Ainsi en effectuant le suivi de la réaction par l'intégration du signal des CH_3 du TMSNa, il n'est pas possible d'obtenir une concentration nulle en fin de la réaction. La figure suivante montre la superposition de tous les spectres acquis au cours du suivi de la réaction sur la zone -0,15 à -0,1 ppm.

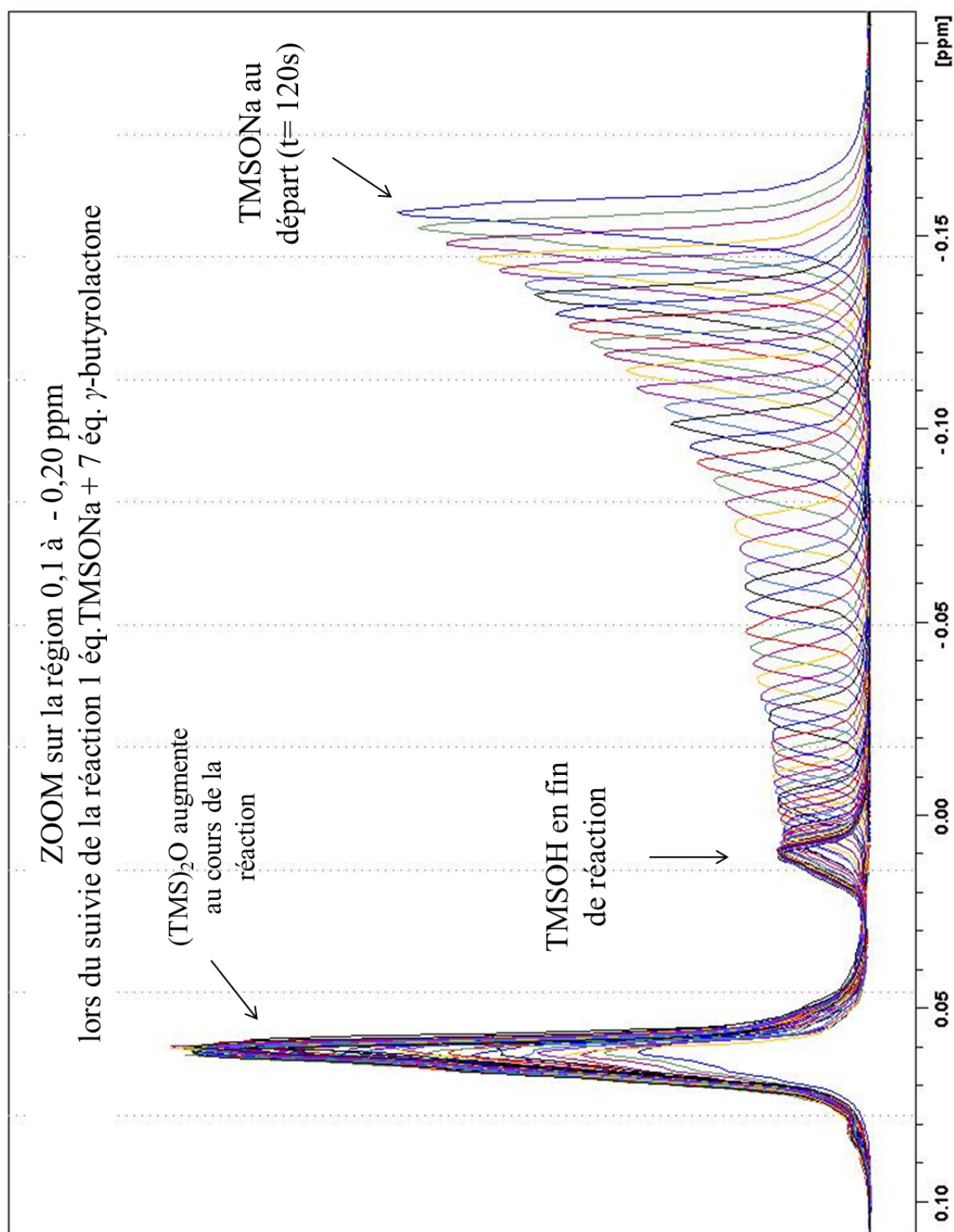


Figure 30 : Superposition des spectres ^1H de suivi de la réaction en présence d'un excès de 7 éq. de lactone

A partir des spectres réalisés pour des concentrations de γ -butyrolactone de 0,6414 M, 0,8090 M, 1,0550M, 1,1704 M, 1,3425 M et avec une concentration initiale de TMSNa de 0,0909 M, nous avons tracé les courbes de l'évolution de la concentration de TMSNa au cours du temps.

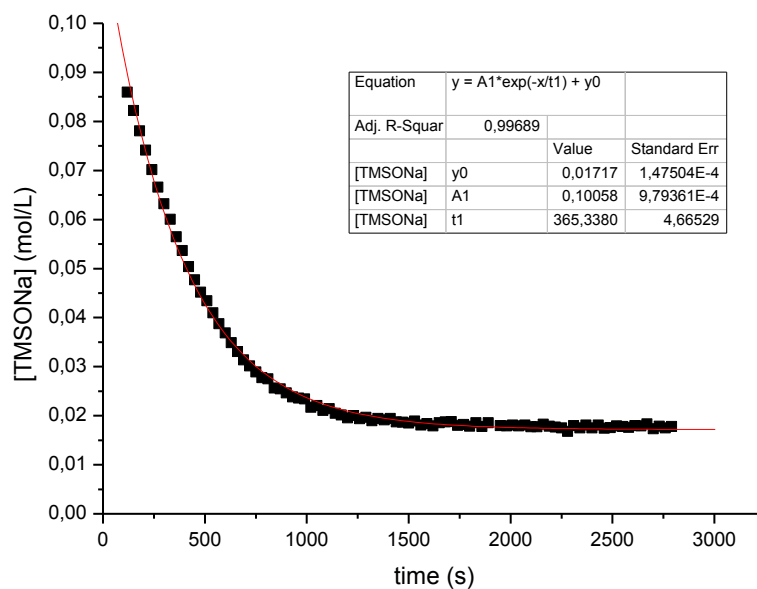


Figure 31 : Courbe de la disparition de TMSNa en réaction avec 7 éq. de γ -butyrolactone (**262**) tel que [TMSNa] = 0,0909 M et [γ -butyrolactone] = 0,6414 M

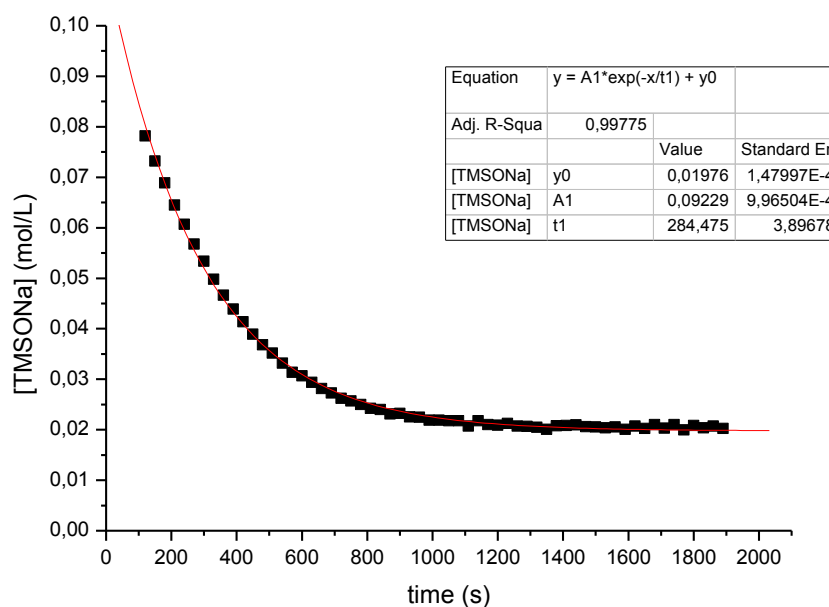


Figure 32 : Courbe de la disparition de TMSNa en réaction avec 9 éq. de γ -butyrolactone (**262**) tel que [TMSNa] = 0,0909 M et [γ -butyrolactone] = 0,8090 M

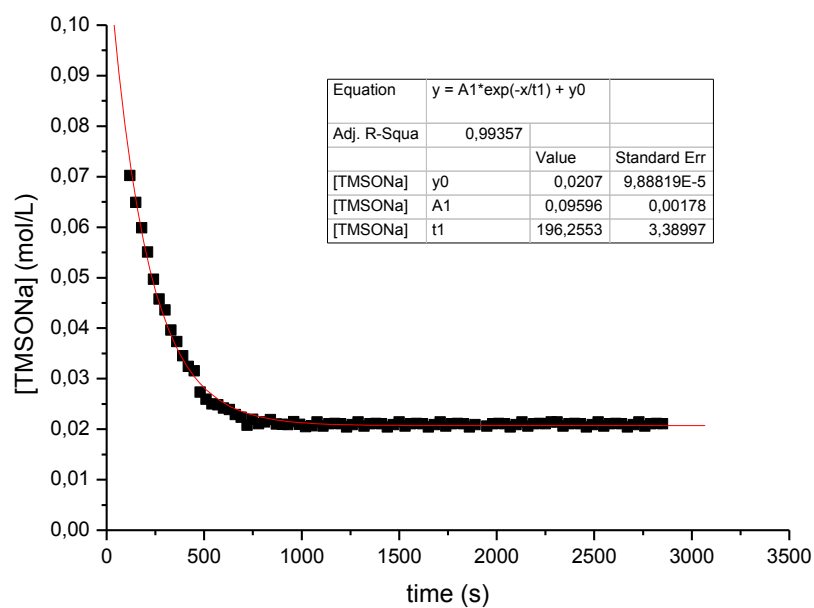


Figure 33 : Courbe de la disparition de TMSNa en réaction avec 11 éq. de γ -butyrolactone (**262**) tel que [TMSNa] = 0,0909 M et [γ -butyrolactone] = 1,0550 M

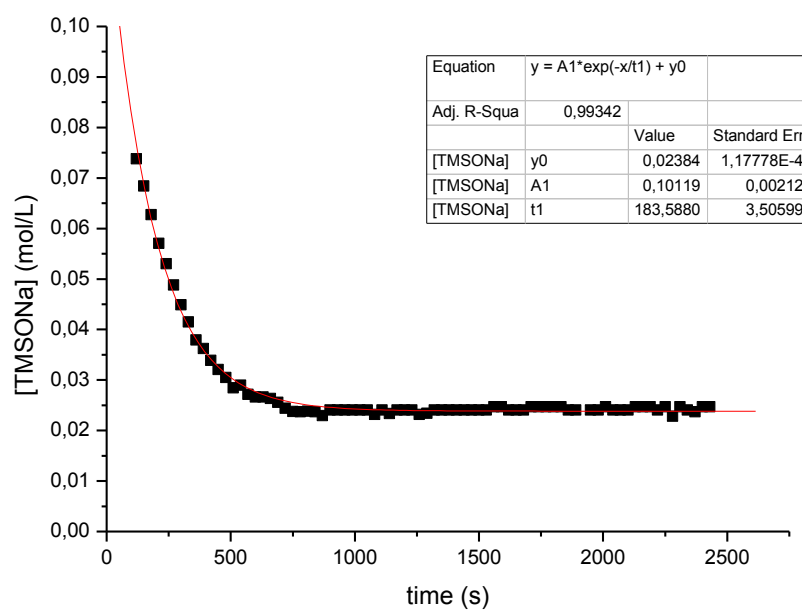


Figure 34 : Courbe de la disparition de TMSNa en réaction avec 13 éq. de γ -butyrolactone (**262**) tel que [TMSNa] = 0,0909 M et [γ -butyrolactone] = 1,1704 M

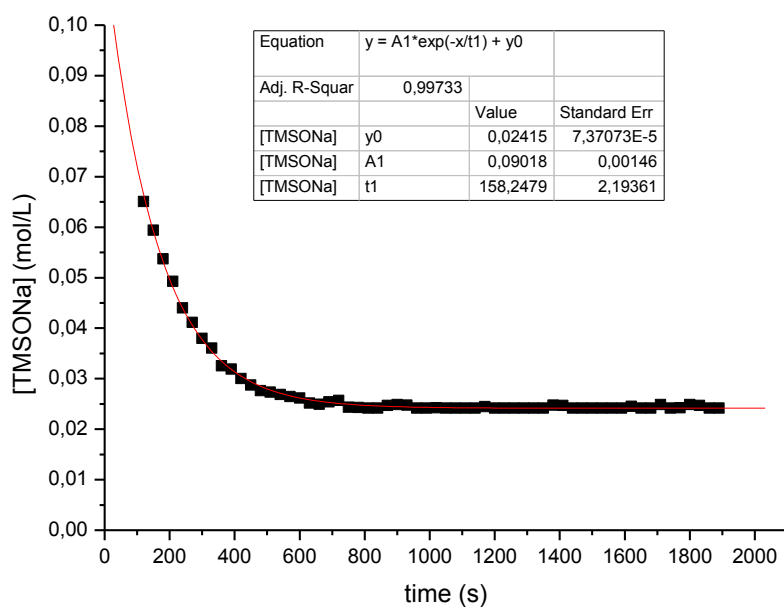


Figure 35 : Courbe de la disparition de TMSONa en réaction avec 15 éq. de γ -butyrolactone (**262**) tel que [TMSONa] = 0,0909 M et [γ -butyrolactone] = 1,3425 M

Bien que les courbes n'atteignent pas zéro, le coefficient de décroissance peut être calculé, permettant l'obtention de la valeur de k' en fonction de la concentration en γ -butyrolactone (**262**).

4.5.5 Calcul du coefficient de vitesse

4.5.5.a) Excès de TMSNa

Les valeurs obtenues de k' sont tracées en fonction de la concentration de TMSNa. La courbe obtenue est bien une droite dont le coefficient directeur est la constante de vitesse de la réaction.

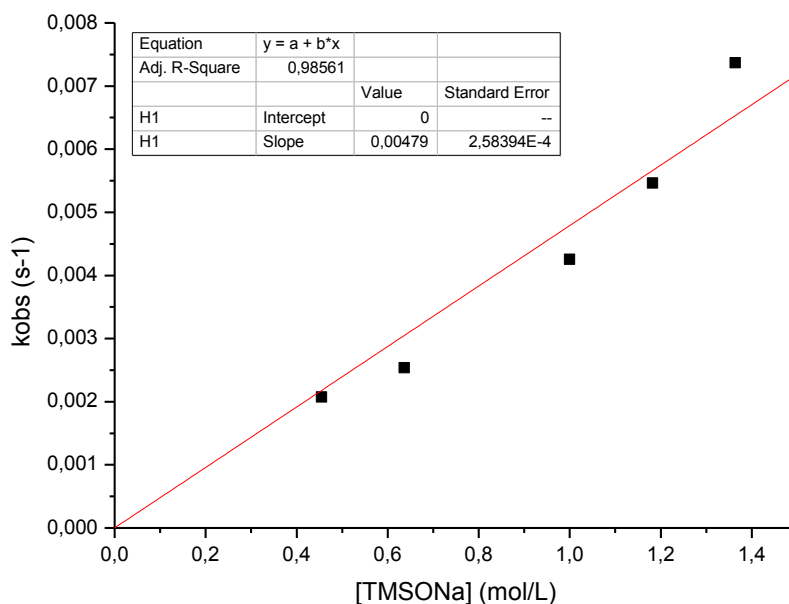


Figure 36 : Courbe représentant k' en fonction de $[TMSNa]$ pour les réactions effectuées avec $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,0909\text{ M}$, $[TMSNa] = 0,4545\text{ M}$, $0,6364\text{ M}$, $1,0000\text{ M}$, $1,1818\text{ M}$ and $1,3636\text{ M}$.

Dans ce cas la valeur de la constante de vitesse est :

$$k = 4,79 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$$

avec une erreur absolue de $\pm 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$

4.5.5.b) Excès de γ -butyrolactone

Les valeurs obtenues de k' sont tracées en fonction de la concentration en γ -butyrolactone. La courbe obtenue est bien une droite dont le coefficient directeur est la constante de vitesse de la réaction.

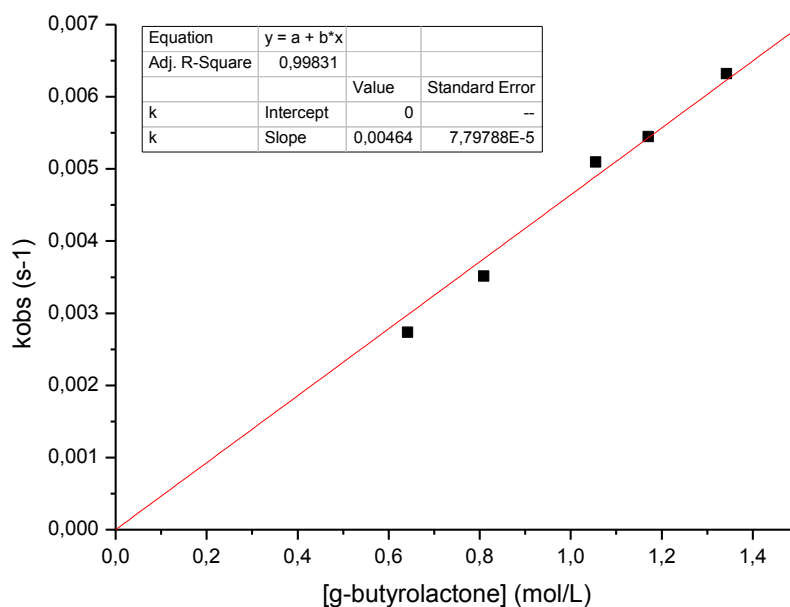


Figure 37 : Courbe représentant k' en fonction de $[\gamma\text{-butyrolactone}]$ pour les réactions effectuées avec $[\text{TMSNa}] = 0,0909 \text{ M}$, $[\gamma\text{-butyrolactone}] = 0,6414 \text{ M}$, $0,8090 \text{ M}$, $1,0550 \text{ M}$, $1,1704 \text{ M}$, $1,3425 \text{ M}$

Dans ce cas la valeur de la constante de vitesse est :

$$k = 4,64 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$$

avec une erreur absolue de $\pm 0,08 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$

4.5.6 Validation de l'équation de réaction

Les deux valeurs obtenues pour k' sont regroupées dans le tableau suivant :

Variation de la concentration de	k ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$)
TMSNa	$4,79 \cdot 10^{-3} \pm 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$
γ -butyrolactone	$4,64 \cdot 10^{-3} \pm 0,08 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$

Tableau 10 : Constante de vitesse obtenue dans les conditions de pseudo premier ordre pour l'ouverture de la lactone (**262**) par le TMSNa

Les deux valeurs obtenues ont un écart relatif de 1,6 %, il est donc raisonnable de considérer que les valeurs de k' obtenues sont identiques et que leur moyenne constitue la valeur de la constante de vitesse globale de la réaction tel que :

$$k = 4,71 \cdot 10^{-3} \pm 0,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{s}^{-1}$$

L'équation cinétique de la réaction s'écrit donc :

$$-\frac{d[\gamma - \text{butyrolactone}]}{dt} = 4,71 \cdot 10^{-3} [\gamma - \text{butyrolactone}] \cdot [\text{TMSNa}]$$

Cette étude cinétique nous a permis de définir que la réaction est bimoléculaire c'est-à-dire d'ordre global 2, chaque réactif étant d'ordre 1. Nous pouvons donc conclure que l'étape cinétiquement déterminante est bien l'addition du TMSNa sur la γ -butyrolactone (**262**) et qu'une seule molécule de TMSNa intervient lors de cette étape.

4.6 Effet de la substitution en C4 sur la cinétique de la réaction

Afin de déterminer si l'attaque du TMSNa a lieu sur le carbone C1 par un mécanisme de type $B_{AC}2$ ou sur le carbone C4 par un mécanisme de type $B_{AL}2$, nous avons étudié l'influence de la substitution en C4. Pour cela nous avons mesuré la cinétique de réaction équimolaire entre la δ -valérolactone (**265**) et le TMSNa, et nous avons comparé les temps de demi-réaction.

En effet dans le cas d'un mécanisme de type $B_{AL}2$ l'effet de la substitution doit être très significatif. Par exemple lors de la substitution nucléophile S_N2 entre un alcoolate et un halogénoalcane, la substitution en α de l'halogène par un groupement méthyle ralentit la réaction d'environ 30 fois. Pour un groupement isopropyle la réaction est environ 1000 plus lente²⁹¹.

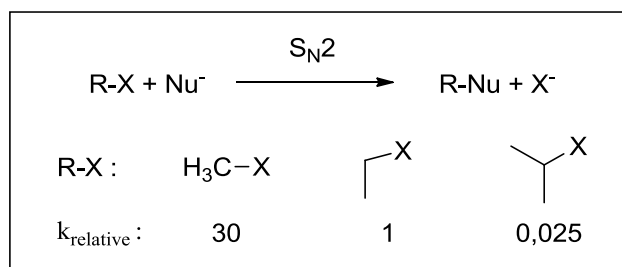


Figure 38 : Influence de la substitution sur la vitesse relative de la S_N2 entre un nucléophile et un halogénoalcane.

Nous avons vu précédemment que dans des conditions équimolaires ($[\gamma\text{-butyrolactone}]_0 = [\text{TMSNa}]_0 = 0,0909 \text{ M}$), le temps de demi-réaction est de $t_{1/2-\gamma\text{-butyrolactone}} = 1920 \text{ s}$.

Lorsque la δ -valérolactone (**265**) est mise en réaction équimolaire avec le TMSNa ($[\delta\text{-valérolactone}]_0 = [\text{TMSNa}]_0 = 0,0909 \text{ M}$), le demi temps de réaction est de **3810 s** soit 63,5 minutes.

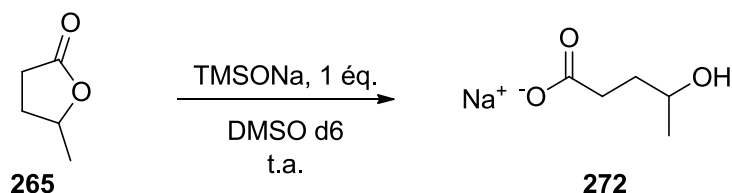


Schéma 135 : Réaction d'ouverture de la δ -valérolactone (**265**) par le TMSNa en conditions équimolaires

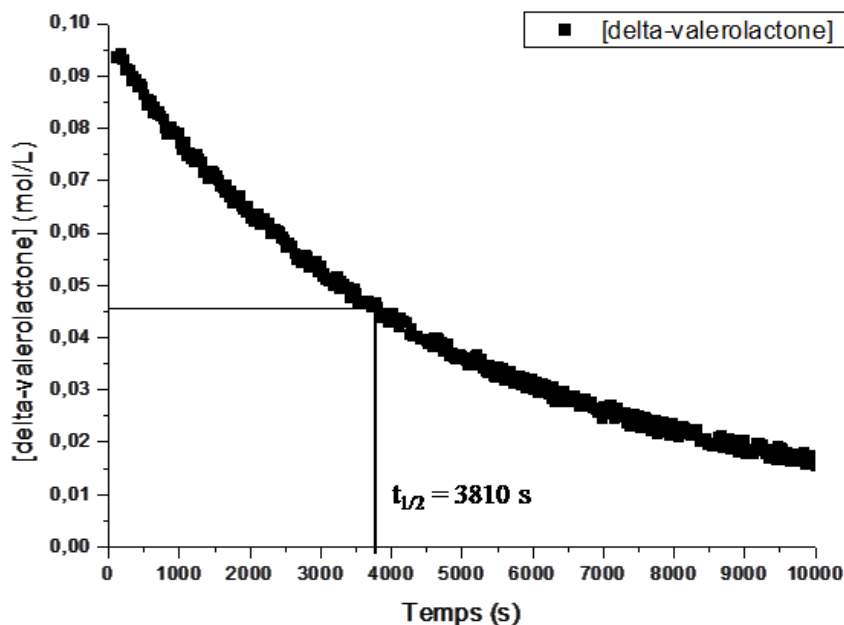


Figure 39 : Cinétique de l'ouverture de la δ -valérolactone (**265**) par le TMSNa en conditions équimolaires

La réaction avec la γ -butyrolactone (**262**) est donc 1,98 fois plus rapide que la réaction avec la δ -valérolactone (**265**) soit :

$$t_{\frac{1}{2}}(\gamma\text{-butyrolactone}) = 1,98 \times t_{\frac{1}{2}}(\delta\text{-valérolactone})$$

Bien que nous constatons une différence de cinétique entre la γ -butyrolactone (**262**) et la δ -valérolactone (**265**), cette valeur n'est pas significative d'un effet stérique du groupement méthyle.

Ainsi l'effet cinétique observé n'est pas dû à la gêne stérique du groupement méthyle en C4, ce qui nous permet d'exclure une attaque du TMSNa sur le C4 *via* un mécanisme de type B_{AL}2.

En revanche l'effet observé sur la cinétique peut être dû à un effet conformationnel du cycle qui défavoriserait légèrement l'attaque sur le C1 dans le cas de la δ -valérolactone (**265**)

4.7 Piégeage par un électrophile

Afin de vérifier la présence du carboxylate dans le milieu, il a été envisagé de le piéger sous forme d'ester par un électrophile. Deux électrophiles ont été utilisés : l'iodure de méthyle **283** et le 4'-bromophénacétyle **284**.

4.7.1 Utilisation de MeI

L'ajout d'iodure de méthyle au milieu réactionnel après complétion de la réaction dans différents solvant (DCM, THF) ne fournit pas l'ester désiré (**285**). Deux raisons peuvent expliquer l'échec de la méthylation. D'une part, la faible solubilité du milieu peut empêcher l'estérification, d'autre part l'iodure de méthyle favorise la relactonisation du produit. En effet après ajout du MeI dans le milieu réactionnel, l'analyse RMN du brut montre la présence de la lactone à hauteur de 75 %.

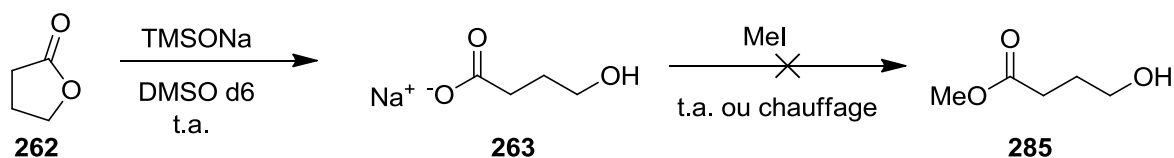
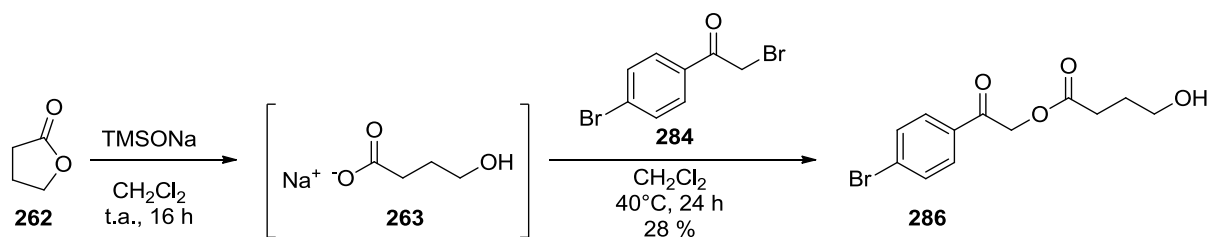


Schéma 136 : L'alkylation du carboxylate de sodium **263** par le MeI n'est pas observé

4.7.2 Utilisation du bromure de 4'-bromophénacétyle

Nous avons alors envisagé un autre électrophile : le 4'-bromophénacétyle (**284**). Après que la réaction d'ouverture de la γ -butyrolactone (**263**) dans le CH₂Cl₂ soit terminée, l'électrophile **284** est ajouté (4 éq.) et le milieu est agité à 40 °C pendant 24 heures. Après purification par colonne chromatographique sur gel de silice, le composé **286** est isolé avec un rendement faible de 28 %. Bien que le rendement soit faible, cette réaction nous a permis de confirmer que l'espèce obtenue par ouverture de la lactone par le TMSNa est bien le carboxylate **263**.

Schéma 137 : Alkylation du carboxylate **263** par le bromure **284**

4.8 Conclusion et perspectives à propos du mécanisme

A partir des données expérimentales obtenues lors de cette étude, nous pouvons valider les hypothèses les suivantes :

- La première étape du mécanisme procède par une addition nucléophile sur le carbone C1 de la lactone (B_{AC2}).
- Cette étape est l'étape cinétiquement déterminante de la réaction.
- La cinétique globale de la réaction est d'ordre 2 et la cinétique est de premier ordre pour chacun des réactifs, il n'y a donc qu'une seule molécule de TMSNa qui réagit.
- Une demi-molécule d'eau est nécessaire pour obtenir l'hydroxy-carboxylate de sodium
- Le NaOH présent dans le milieu catalyse l'hydrolyse de l'éther silylé **280**

L'intermédiaire **280** n'a pas pu être isolé, ni observé à cause de la présence d'eau dans le milieu. Cet intermédiaire est toujours hypothétique. Pour isoler ou observer ce composé la réaction doit être effectuée dans des conditions très anhydres (<1 ppm). Pour cela nous pouvons envisager de préparer le TMSNa et de le sublimer avant utilisation. La lactone doit aussi être complètement séchée par plusieurs distillations et passage sur tamis moléculaire. Enfin nous devons trouver des conditions de séchage du DMSO-*d*₆ pour qu'il y ait moins d'1 ppm d'eau (0,0001 %). Cependant ce composé est tellement hygroscopique que les teneurs en eau les plus faibles obtenues pour le DMSO sont de l'ordre de 10 ppm après passage sur une colonne de tamis moléculaire de type Linde (4Å, 14x30 mesh)²⁹².

De plus le rôle de la soude dans la réaction reste à approfondir, en effet en conditions sans soude il y aurait deux possibilités : soit la réaction ne démarre pas ou est très lente, soit le composé **280** est formé et reste stable.

Enfin il serait intéressant d'effectuer une étude de modélisation afin de corréler les résultats expérimentaux avec le calcul.

*Nous avons montré que le mécanisme proposé page 101 pour la réaction d'ouverture de lactone par le TMSNa est plausible. Des preuves expérimentales supplémentaires restent cependant nécessaires pour prouver l'existence de l'intermédiaire silylé **280**. Après avoir vu l'application de cette réaction sur des lactones commerciales, nous allons maintenant décrire l'extension de cette réaction au sweroside (**4**) et à ses dérivés.*

5. Extension de la réaction au sweroside et à ses dérivés

5.1 Ouverture de la lactone du sweroside

La réaction d'ouverture de lactone par le TMSONa a été appliquée au sweroside (**4**) et à ses dérivés, permettant l'accès à de nouveaux synthons originaux dans des conditions douces, aprotiques et avec de bons rendements.

5.1.1 Ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside par le TMSONa

Lorsqu'une solution 1M de TMSONa dans le CH_2Cl_2 est ajoutée en excès (2 éq.) à une solution de **201** dans le CH_2Cl_2 , l'ouverture de la lactone a lieu en seulement 2 heures avec une conversion totale. Il est à noter qu'un excès de TMSONa est nécessaire pour que la réaction soit complète, cela pourrait être expliqué par le fait qu'il n'y ait pas assez d'eau pour hydrolyser l'intermédiaire O-silylé. Cependant le suivi RMN ^1H de cette réaction n'a pas permis l'observation de cet intermédiaire.

De plus aucune déprotection des groupements pivaloyle n'est observée. Le TMSONa est donc sélectif de la lactone par rapport aux pivaloates. Contrairement aux hydroxy-acides obtenus à partir des lactones commerciales, le composé **202** ne relactonise pas après passage rapide sur silice. Ainsi lorsque la conversion est complète, le milieu est neutralisé par l'ajout de silice et le brut est directement purifié sur chromatographie sur gel de silice permettant l'isolement du composé **202** avec un bon rendement de 88 %.

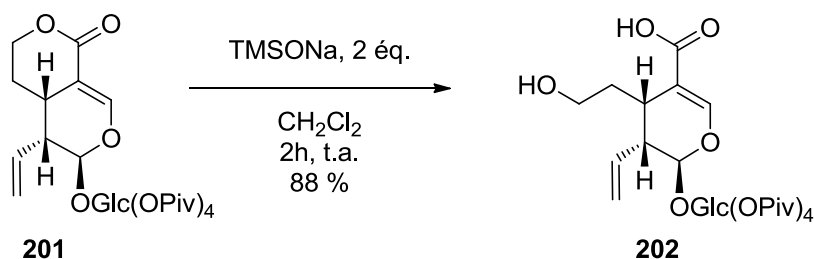


Schéma 138 : Ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside (**201**) par le TMSONa

Cependant le composé **202** relactonise en solution ou même lorsqu'il est pur et conservé à $-18\text{ }^\circ\text{C}$ (Environ 20 % de relactonisation en 24 heures à température ambiante).

5.2 Ouverture de lactone des dérivés du sweroside

5.2.1 Synthèse des dérivés de sweroside

5.2.1.a) Synthèse des diols

Le sweroside perpivaloylé (**201**) est mis en réaction avec le tétr oxyde d'osmium et la NMO selon les conditions de McLean⁸¹. Il est nécessaire d'utiliser 5% molaire de tétr oxyde d'osmium avec un temps

de réaction de 4 jours pour obtenir une conversion complète. Le mélange de diols est obtenu avec un rendement de 73 %. L'excès diastéréoisomérique observé est le même que celui décrit pour le tétraacétate de sweroside : (*R*)-**287** / (*S*)-**287** : 4 / 3 par Mc Lean (cf page 37).

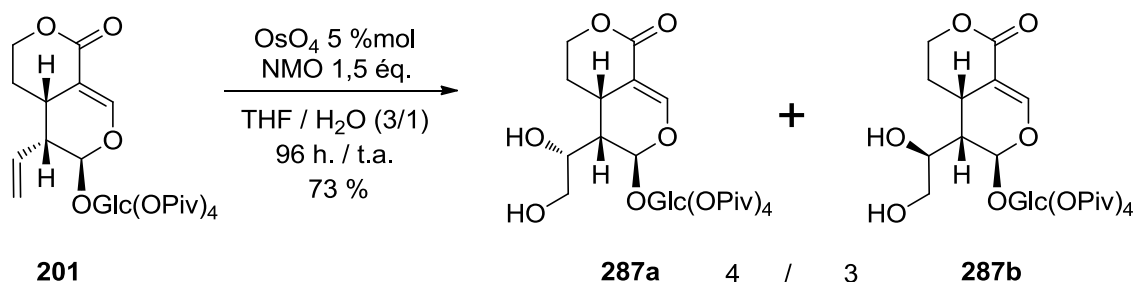


Schéma 139 : Dihydroxylation du perpivaloylsweroside (**201**)

Les deux diastéréoisomères obtenus ne sont pas séparables par chromatographie sur gel de silice. Afin de les séparer, nous avons envisagé de protéger le diol de chaque composé par un groupement protecteur orthogonal au groupement pivaloyle.

5.2.1.b) Protection du diol et séparation des diastéréoisomères

Les glycols **287a** et **287b** sont protégés sous forme d'acétonide, par réaction dans l'acétone en présence de quantité catalytique d'acide camphorsulfonique. La réaction, réalisée selon la méthode classique^{293,294}, permet d'isoler indépendamment les composés **288a** et **288b** avec des rendements respectifs de 23 % et de 44 %. De plus, environ 30 % de produit de départ sont récupérés, le rendement global et corrigé est alors de 97 %.

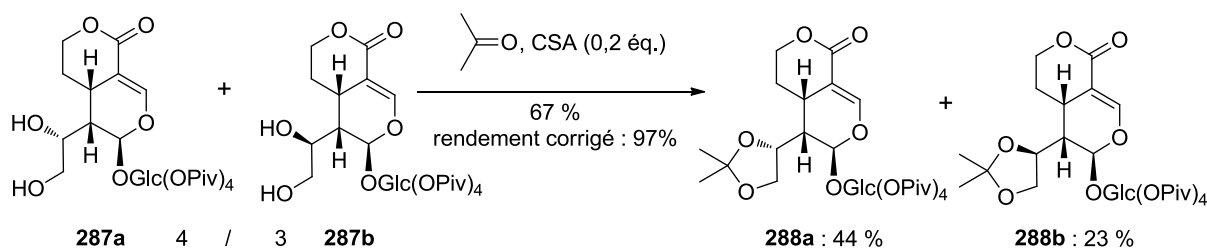


Schéma 140 : Protection du mélange de diols **287**

5.2.1.c) Synthèse de l'époxyde

La double liaison exocyclique du perpivaloylsweroside (**201**) est époxydée par l'action du *m*CPBA dans le toluène à 50°C selon la méthode de McLean⁸² modifiée. Un excès de *m*CPBA ainsi qu'un temps de réaction de 72 heures sont nécessaires pour réaliser la réaction avec 90 % de conversion. Ces conditions assez drastiques pour une époxydation, permettent de constater que la réactivité de la double liaison est assez faible. Si les dérivés acétylés **145** correspondants sont décrits en mélange inséparables, il est à noter que la présence des groupements pivaloyles a permis de séparer sans difficultés les isomères **289a** et **289b** sur colonne chromatographique de gel de silice. La

stéréosélectivité assez faible (6 / 2) en faveur de l'isomère 8-(*R*) est en accord avec la stéréosélectivité décrite par McLean pour le tétraacétate de sweroside (7 / 3). La configuration absolue des composés **289a** et **289b** est définie par comparaison avec les données de la littérature⁸².

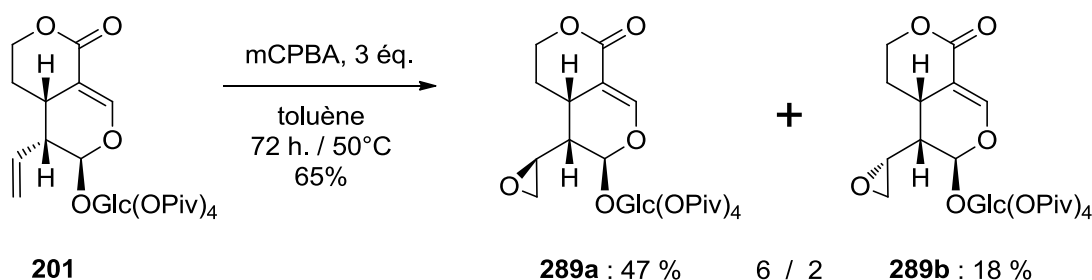


Schéma 141 : Epoxydation du perpivaloylsweroside (**201**)

Le rendement de la réaction (65%) et la possibilité de séparer les deux isomères constituent des améliorations par rapport à la méthode existante.

5.2.2 Application de la réaction d'ouverture de lactone sur les analogues de sweroside

5.2.2.a) Essai d'ouverture de la lactone du mélange de diols **287**

Lorsque le mélange de diol **287** est mis en réaction avec 2 équivalents de TMSNa dans le CH₂Cl₂ aucune réaction n'est observée. L'ajout d'équivalents supplémentaires (5 à 10 équivalents) au milieu réactionnel ne montre pas de modification et le composé **290** n'est pas formé.

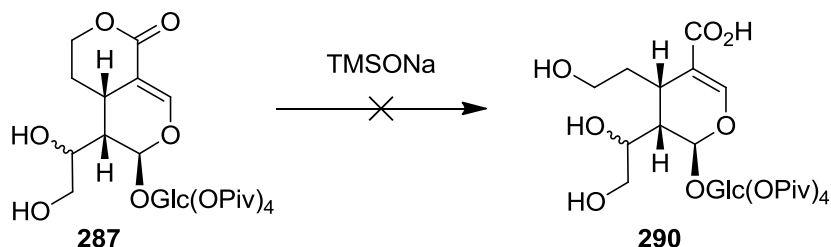
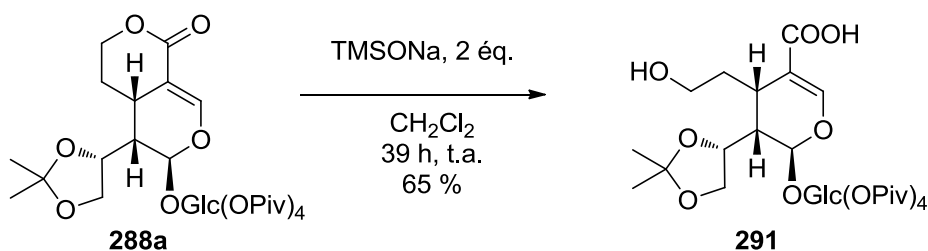


Schéma 142 : Essai d'ouverture de la lactone **287**

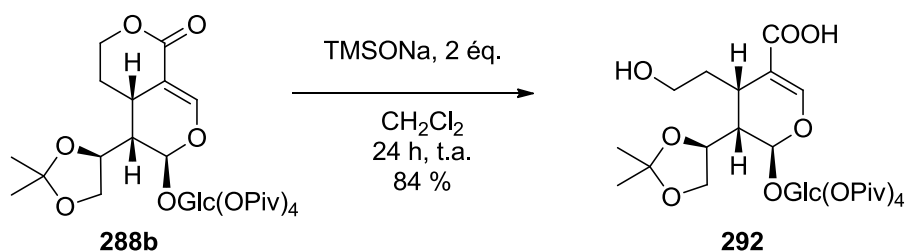
Nous avons donc envisagé l'ouverture de la lactone des diols protégés **288**.

5.2.2.b) Ouverture de la lactone des diols protégés

L'utilisation de deux équivalents de TMSNa conduit à une conversion de 90 %. Dans le cas du composé **288a**, la réaction nécessite 39 heures. La réaction est arrêtée par l'ajout de silice. Le produit pur **291** est isolé, après purification sur colonne chromatographique de gel de silice, avec un rendement de 65 %.

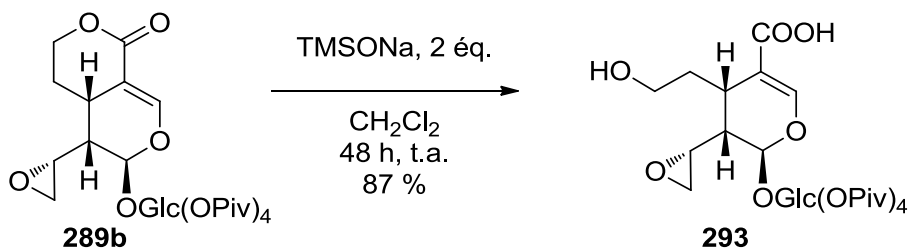
Schéma 143 : Ouverture de la lactone du composé **288a**

Dans le cas du composé **288b** la réaction est plus rapide, le produit **292** est alors isolé avec un bon rendement de 84 % après 24 heures de réaction.

Schéma 144 : Ouverture de la lactone du composé **288b**

5.2.2.c) Ouverture de la lactone de l'époxyde (*S*)-289b

L'action du TMSNa sur l'époxyde **289b** est chimiosélective de l'ouverture de lactone vs l'ouverture d'époxyde. Ainsi lorsque **289b** est mis en présence de deux équivalents de TMSNa dans le dichlorométhane, l'ouverture de la lactone est complète après 48 heures. Le produit **293** est isolé avec un bon rendement de 87 %.

Schéma 145 : Ouverture de la lactone du composé **289b**

5.2.2.d) Ouverture de la lactone de l'époxyde (*R*)-289a

Dans le cas de l'époxyde **289a**, la réaction d'ouverture de la lactone a bien lieu et l'époxyde n'est pas ouvert par le TMSNa. Après 24 heures de réaction avec deux équivalents de TMSNa, la conversion est de 93 %. On observe alors un mélange 37 / 63 des composés **294a** et **294b**. Les deux composés sont séparables et le produit **294a** est isolé avec un rendement de 22 % tandis que le composé attendu **294b** est isolé avec un rendement de 38 %.

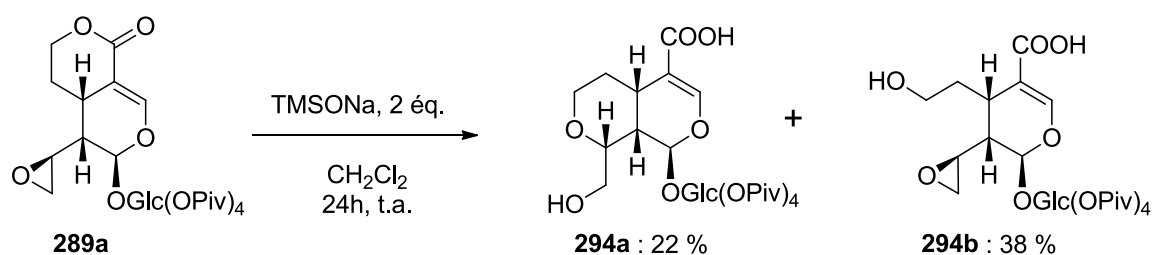


Schéma 146 : Ouverture de la lactone du composé **289a**

Le produit **294a** est formé par cyclisation intramoléculaire du composé **295** via l'ouverture de l'époxyde par l'alcoolate en C7. En effet la configuration de l'époxyde en anti de l'alcoolate, favorise la réaction de $\text{S}_{\text{N}}2$ cyclisante, conduisant au composé **294a**.

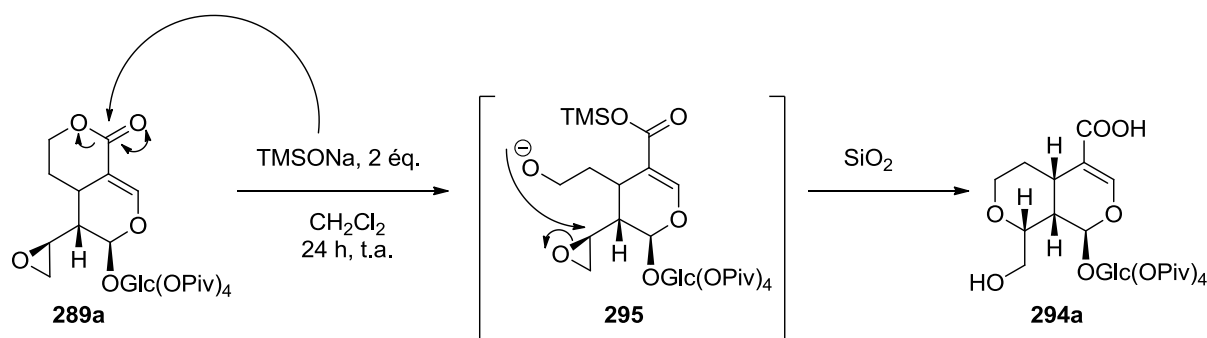


Schéma 147 : Mécanisme de formation du composé **294a**

La configuration absolue du centre asymétrique en C8 peut être confirmée par la corrélation NOESY entre le proton H1 et un des protons H10. Cette corrélation ne peut exister que si le proton H8 est sur la face β . Cette observation confirme le mécanisme de $\text{S}_{\text{N}}2$ avec inversion de configuration.

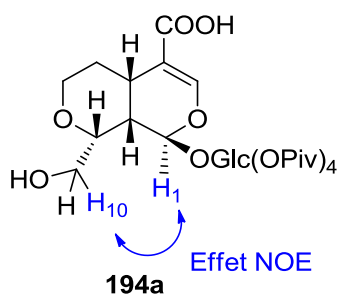


Schéma 148 : Effet NOE observé entre le proton H10 et le proton H1

5.2.3 Conclusion

Grâce au TMSNa nous avons développé une nouvelle méthode d'ouverture de lactones dans des conditions apolaire et anhydre. Cette réaction a été appliquée à plusieurs lactones commerciales avec succès.

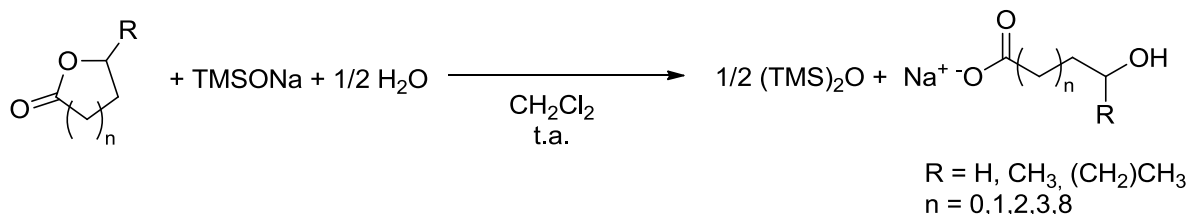


Schéma 149 : Schéma général d'ouverture des lactones

Une étude mécanistique par RMN a permis de montrer que la première étape de cette réaction est l'étape cinétiquement déterminante et qu'elle passe par un mécanisme de type $B_{AC}2$. De plus nous avons pu observer que la soude présente dans le TMSNa joue un rôle catalytique et que l'eau du milieu hydrolyse l'intermédiaire *O*-silylé.

Les conditions douces de la réaction d'ouverture de lactone par le TMSNa ont permis d'ouvrir les lactones de composés hautement fonctionnalisés comme le sweroside (**4**) et ses dérivés **288** et **287**. Cette réaction est chimiosélective de la lactone même en présence de nombreux esters ou d'époxyde (**287**). Elle permet d'isoler facilement et rapidement les composés ouverts avec de bons rendements. Bien que les temps de réactions puissent parfois atteindre 48 heures pour les composés les moins réactifs, la conversion est toujours comprise entre 90 % et 100 % grâce à l'utilisation d'un excès de TMSNa. Enfin les composés ainsi obtenus constituent de nouveaux synthons chiraux fonctionnalisés en C7, C8, C10 et C11, permettant l'accès à 4 nouveaux centres fonctionnalisés.

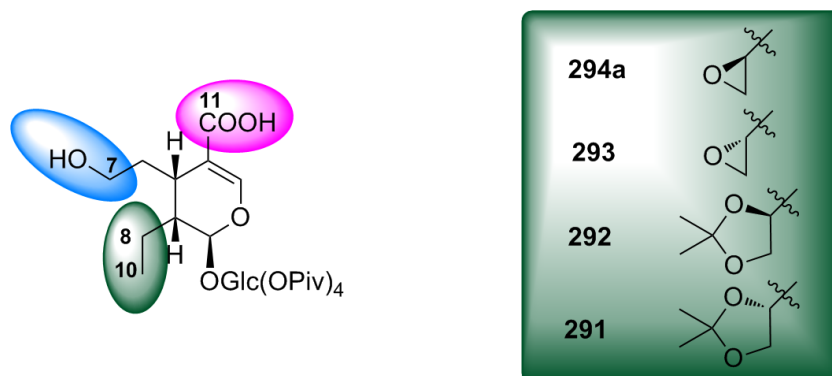


Schéma 150 : Les quatre points de fonctionnalisation obtenu à partir du sweroside

Chapitre 4 Accès à des analogues de sécologanoside à partir du sweroside et de l'oleuropeine

Dans ce chapitre nous allons présenter nos résultats concernant l'utilisation du sweroside (**4**) et de l'oleuropeine (**2**) comme matières premières pour la synthèse d'analogues de sécologanoside. Nous montrerons d'abord la conversion du sweroside (**4**) en sécologanoside (**3**) *via* une nouvelle méthode en trois étapes séquentielles. Cette stratégie de synthèse sera ensuite étendue aux dérivés oxydés du sweroside (**288** et **287**). Enfin nous aborderons la synthèse d'un nouveau dérivé isomérique du sécologanoside à partir de l'oleuropeine (**2**).

1. Synthèse à partir du sweroside

1.1 Accès au sécologanoside

1.1.1 Rappels bibliographique

La conversion du sécologanoside (**3**) en sweroside (**4**) peut être facilement effectuée par réduction au NaBH_4 ¹⁶⁹. Le processus inverse de conversion du sweroside (**4**) en sécologanoside (**3**) est, en revanche, bien plus difficile à mettre en œuvre. Jusqu'à présent une seule méthode de conversion a été décrite dans la littérature. Cette méthode, développée par McLean *et al.* en 1981, permet l'accès au sécologanoside à partir du sweroside en 7 étapes avec un rendement global de 69 %¹⁸⁷.

Cette transformation débute par l'ouverture de la lactone du sweroside acétylé **139** par l'action d'iodure de triméthylsilyle (TMSI). Après work-up le composé instable **198** est directement méthoxylé par une solution de diazométhane dans l'éther diéthylique pour donner le composé **296**. Le produit brut est obtenu après traitement aqueux avec un rendement de 94 % et est directement utilisé pour la suite de la synthèse.

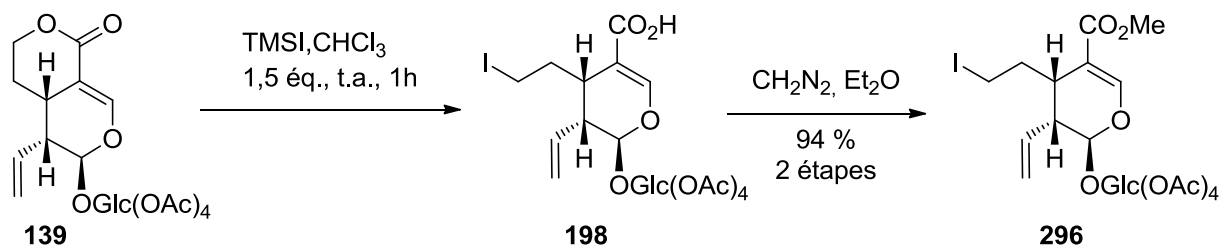
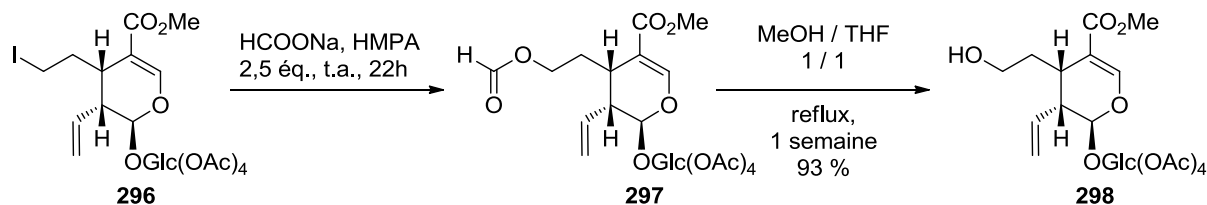


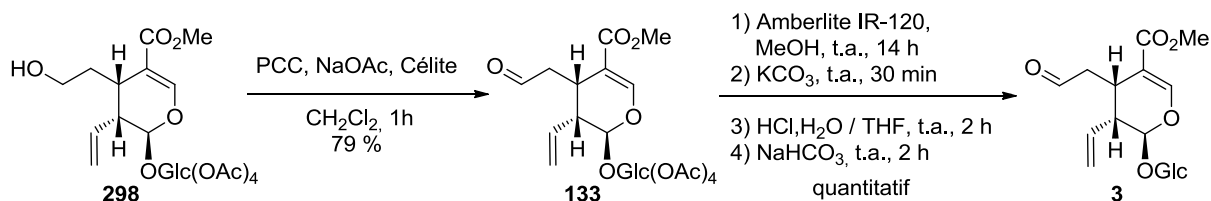
Schéma 151 : Obtention du composé **140** à partir du tétraacétylsweoside **139**

De nombreuses conditions oxydantes ou d'hydrolyses ont été testées par les auteurs pour déplacer l'iode du composé **140**. Cependant la plupart de ces essais ont été infructueux, très souvent à cause de la recyclisation de l'intermédiaire. En revanche, le composé **140** peut être transformé en formate **297**

par l'action du formate de sodium dans le HMPA. Cette réaction est quantitative après 22 h à température ambiante. La méthanolyse du groupement formate est effectuée par chauffage du composé **297** dans un mélange MeOH / THF au reflux pendant une semaine. Le composé **298** est ensuite obtenu après work-up de la réaction avec un rendement de 93 %.

Schéma 152 : Formation du composé **298** à partir de **140**

Le composé **298** est alors oxydé par le PCC, pour fournir le tétraacétate de sécologanoside (**133**) avec un rendement de 79 %. Le sécologanoside (**3**) est ensuite obtenu après déprotection du glucose par l'action du carbonate de potassium dans le méthanol. L'aldéhyde peut être sensible à la réaction de déprotection en formant des hémiacétals, ou des acétals et faire diminuer le rendement. Pour éviter ces problèmes l'aldéhyde est préalablement transformé *in-situ* sous forme de diméthylacétal par l'action d'une résine acide dans le méthanol. Le glucose est ensuite déprotégé, puis l'aldéhyde est obtenu par acidification du milieu par HCl. Selon les auteurs ce processus est quantitatif.

Schéma 153 : Formation du sécologanoside **3** à partir de **298**

Cette méthode, qui est jusqu'à présent la seule décrite, permet l'accès au sécologanoside (**3**) à partir du sweroside (**4**) avec un bon rendement global de 69 % selon les auteurs. Cependant ce procédé possède quelques inconvénients :

- Il nécessite 7 étapes, et autant de traitement de la réaction et de purification.
- Le procédé est long et nécessite environ 10 jours pour obtenir le sécologanoside (**3**) à partir du tétraacétate de sweroside (**139**).
- De nombreux produits dangereux et/ou toxiques sont utilisés : TMSI, CHCl₃, CH₂N₂, HMPA, PCC.

*C'est pourquoi nous avons décidé de mettre au point une nouvelle méthode de conversion du sweroside (**4**) en sécologanoside (**3**) qui soit plus rapide, plus efficace, moins polluante et moins dangereuse pour l'opérateur.*

De plus nous souhaitons que cette méthode puisse être étendue aux dérivés du sweroside **287** et **289** précédemment synthétisés afin d'obtenir une petite chimiothèque de dérivés non naturels de sécologanoside.

1.1.2 Travaux personnels

L'étape clé dans la synthèse de sécologanoside (**3**) à partir du sweroside (**4**) est l'ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside (**201**) par le TMSONa que nous avons décrit précédemment. A partir du composé ouvert **202**, nous pouvons envisager la formation du perpivaloylsécologanoside (**299**) par différentes voies. Nous verrons d'abord une stratégie étape par étape permettant la formation de nouveau synthons chiraux dérivés du sécologanoside, puis nous développerons la mise en place d'une procédure en trois étapes séquentielles, donnant accès au perpivaloylsécologanoside (**299**) sans isoler les intermédiaires.

1.1.2.a) Synthèse étape par étape

L'acide carboxylique du composé **202** obtenu précédemment peut être facilement méthylé par l'action du triméthylsilyldiazométhane selon la réaction décrite par Seyferth *et al.* en 1968^{295,296} et optimisée par Aoyama, Shioiri *et al.* en 1981^{297,298}. Ce réactif est moins toxique, non explosif, thermiquement plus stable et est plus facile d'utilisation que le diazométhane. En effet, la présence de l'orbitale d du silicium stabilise la fonction diazométhyle par résonance $p_{\pi}-d_{\pi}$ entre l'atome de carbone et l'hétéroatome en α ²⁹⁹.

La réaction a lieu dans un mélange toluène / méthanol et l'addition d'un équivalent de TMSCHN₂, permet d'isoler le composé **300** après 15 minutes de réaction avec un bon rendement de 85 %.

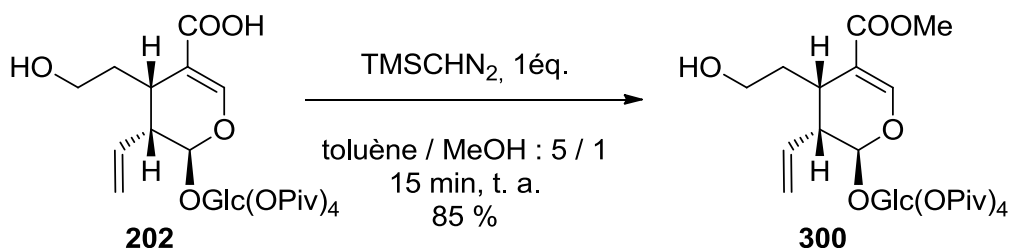


Schéma 154 : Méthylation de **202** par le TMSCHN₂

Contrairement à son homologue acétylé (**199**), le composé **300** ne relactonise pas rapidement. Ainsi lorsque le composé **300** est laissé à t.a. pendant plusieurs semaines, il n'y a pas formation du composé **201**.

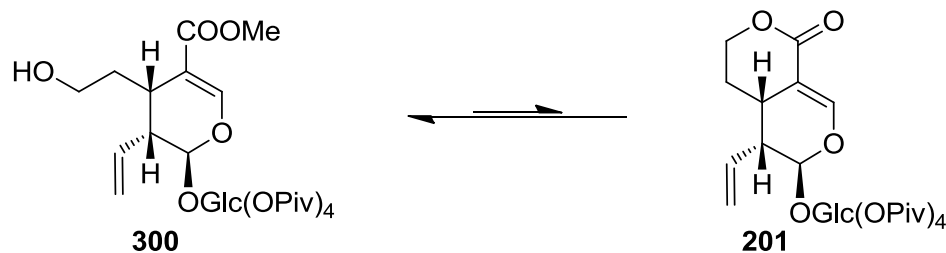


Schéma 155 : La relactonisation de **300** est lente

Le composé **300** est ensuite oxydé par le PDC en présence d'acide acétique et de tamis moléculaire, selon la méthode de Czernecki *et al.*³⁰⁰ pour former le perpivaloylsécologanoside (**299**) avec un rendement de 72 %.

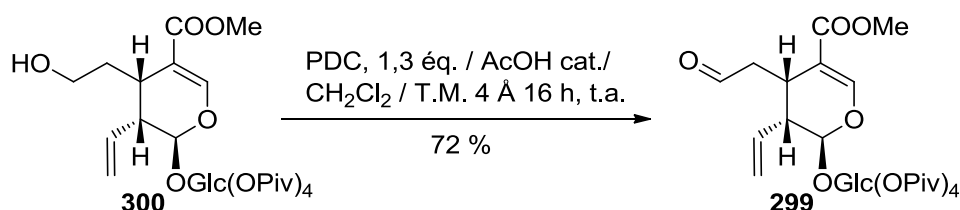


Schéma 156 : Formation du perpivaloylsécologanoside (**299**) à partir de **300**

Cette méthode permet donc l'accès au perpivaloylsécologanoside (**299**) à partir du sweroside (**4**) en quatre étapes avec un rendement global de 46 %. Cependant cette méthode nécessite une purification entre chaque étape, de plus la réaction de méthylation doit être effectuée rapidement afin d'éviter la relactonisation du composé **202**. Il a donc été envisagé de mettre au point une méthode séquentielle permettant l'obtention du composé **299** à partir de **201** avec une seule purification.

Il est à noter que la protection directe du sécologanoside (**3**) en perpivaloylsécologanoside (**299**) conduit à la formation d'un mélange complexe de composés et à une dégradation du sécologanoside.

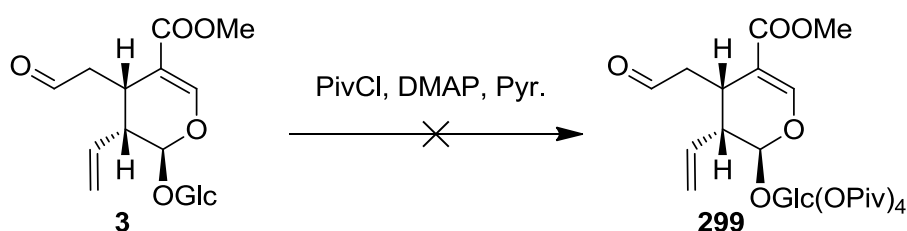
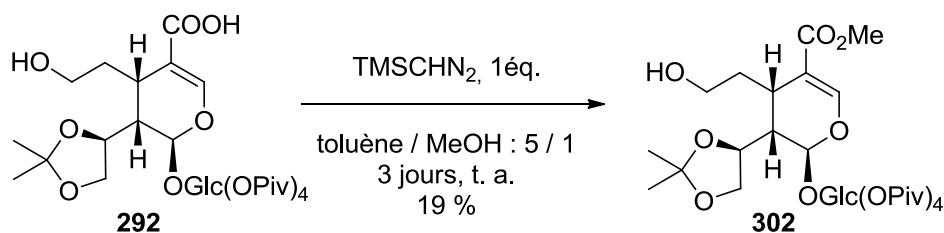


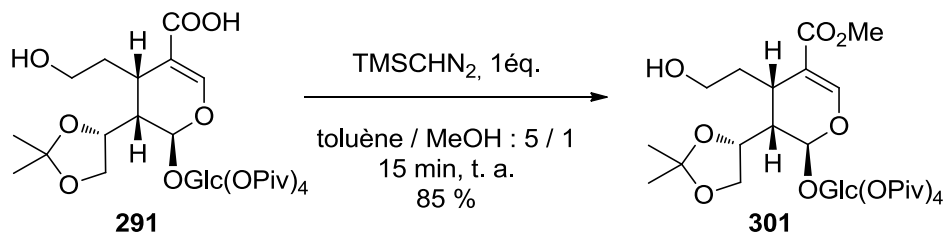
Schéma 157 : Le glucose du sécologanoside n'a pas pu être directement pivaloylé

➤ Méthoxylation de **291** et **292** par le TMSCHN₂

Il est à noter que la méthode de méthoxylation par le TMSCHN₂ a aussi été appliquée aux composés **291** et **292** permettant l'accès aux composés **301** et **302**. Le composé **302** est obtenu avec un faible rendement de 19 %. Même après 3 jours de réactions, 66 % du produit de départ est récupéré.

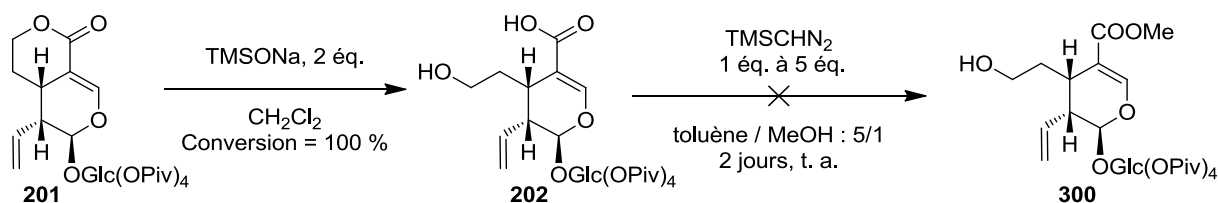
Schéma 158 : Formation du composé **302** par méthoxylation de **292**

Le composé **301** est quant à lui obtenu avec un bon rendement de 85 % après 15 minutes de réaction.

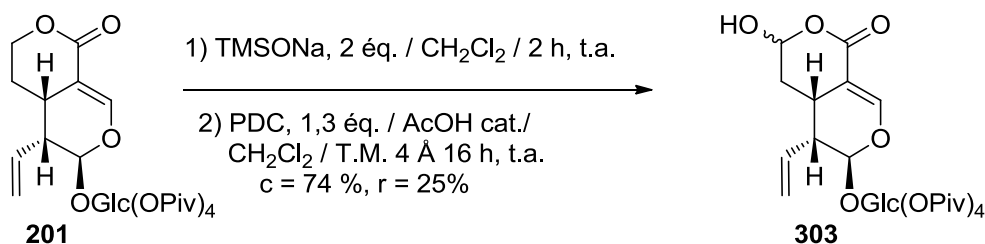
Schéma 159 : Formation du composé **291** par méthoxylation de **301**

1.1.2.b) Synthèse en 3 étapes séquentielles

Nous avons tout d'abord envisagé de méthyler **202** directement après ouverture complète de la lactone **201** dans le même ballon. Lorsque la réaction est complète, le milieu est évaporé, puis le milieu est dissous dans un mélange toluène / MeOH : 5 / 1 et le TMSCHN₂ est ajouté. Malheureusement l'ajout de TMSCHN₂ au milieu réactionnel constitué de TMSNa en excès et de **202** ne permet pas l'obtention de **300**, même après deux jours à t.a. et l'ajout d'un d'excès de TMSCHN₂ (jusqu' à 5 équivalents). Le caractère basique du milieu réactionnel dégrade probablement le TMSCHN₂, empêchant ainsi la méthoxylation. De plus après 12 heures, un début de relactonisation est observée par CCM.

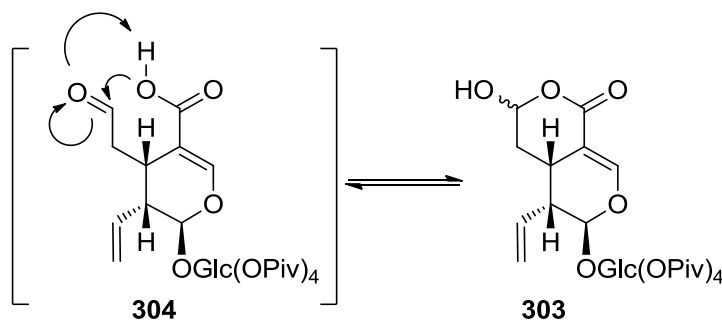
Schéma 160 : L'addition de TMSCHN₂ sur le brut de **202** ne permet pas la méthylation

Nous avons donc entrepris d'oxyder **202** directement dans son milieu réactionnel par la méthode de Czernecki *et al.*³⁰⁰. La lactone de **201** est alors ouverte par le TMSNa en présence de tamis moléculaire 4 Å et après consommation totale du produit de départ, le PDC et l'acide acétique sont ajoutés. Après 16 h de réaction à température ambiante, la conversion n'est que de 74 % (26 % de produit de départ est récupéré après purification) et le composé **303** est isolé avec un faible rendement de 25 %.

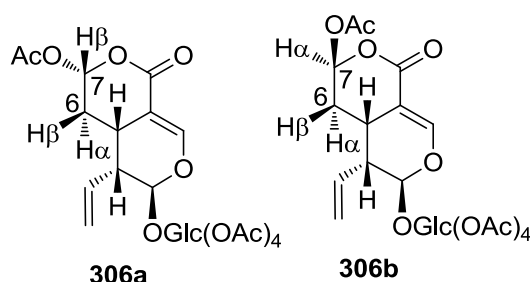

Schéma 161 : Formation de **303** à partir de **201**

➤ Détermination de la configuration absolue de **303**

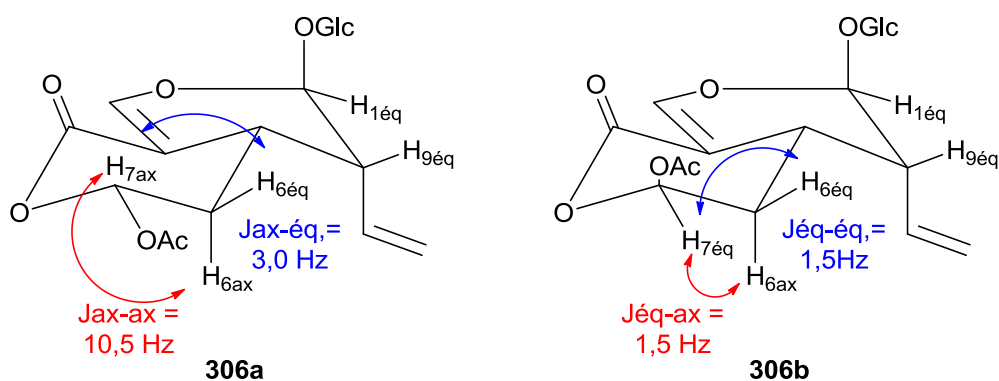
Il est intéressant de noter que la forme aldéhyde libre **304** n'est pas observée. La forme isolée est le lactol **303** issu de la réaction d'acétalisation entre l'hydroxyle de l'acide carboxylique et l'aldéhyde libre. Cette réaction de cyclisation peut être catalysée par l'acide acétique pour conduire à la forme lactol qui est la plus stable, c'est aussi la forme naturelle de l'acide sécologanique (**305**)^{247,52,301}.


Schéma 162 : Mécanisme d'acétalisation de **304**

Dans la littérature la configuration absolue du centre asymétrique en C7 de l'acide sécologanique (**305**) n'est pas décrite. En revanche Damtotft *et al.*²⁴⁷ ont attribué les protons H7 des deux isomères acétylés **306** en se basant sur la conformation pseudo chaise du sweroside décrite par Verpoorte¹⁸⁶.


Schéma 163 : Les deux isomères **306a** et **306b** issu de l'acétylation de l'acide sécologanique **305**

Dans le cas du composé **306a**, le proton H7 est en position axiale et résonne sous forme de doublet de doublet à 6,48 ppm ($^3J_{H7ax-H6ax} = 10,5$ Hz et que $^3J_{H7ax-H6eq} = 3,0$ Hz). Pour le composé **306b** le proton H7 est en position équatoriale, et sort sous forme de triplet à 6,59 ppm, les constantes de couplages entre les deux protons H6 sont identiques et H7_{eq} ($^3J_{H7eq-H6ax} = ^3J_{H7eq-H6eq} = 1,5$ Hz).

Schéma 164 : Conformation pseudo-chaire des composés **306a** et **306b**

Cette forme lactol se retrouve dans d'autres iridoïdes naturels sous forme substituée. Parmi ces composés nous trouvons le vogeloside (**307**)^{302,303}, l'*epi*-vogeloside (**308**)^{302,303}, le 6'-*O*-(7 α -hydroxyswerosyloxy)loganin (**309**)³⁰⁴, le chelonanthoside (**310**)³⁰⁵, le (7*R*)-7-caféoyloxysweroside (**311**)³⁰⁶, (7*S*)-7-caféoyloxysweroside (**312**)³⁰⁶ ou encore l'adinoside E (**313**)³⁰¹ et l'adinoside D (**314**)³⁰¹. Les mêmes ordres de grandeurs des constantes de couplages sont constatées, par exemple dans le cas du vogeloside (**307**) ($^3J_{H7\beta-H6\alpha} = 9,6$ Hz et que $^3J_{H7\beta-H6\beta} = 2,4$ Hz) et de l'*epi*-vogeloside (**308**) ($^3J_{H7\alpha-H6\alpha} = 2,9$ Hz et $^3J_{H7\alpha-H6\beta} = 2,0$ Hz)³⁰³.

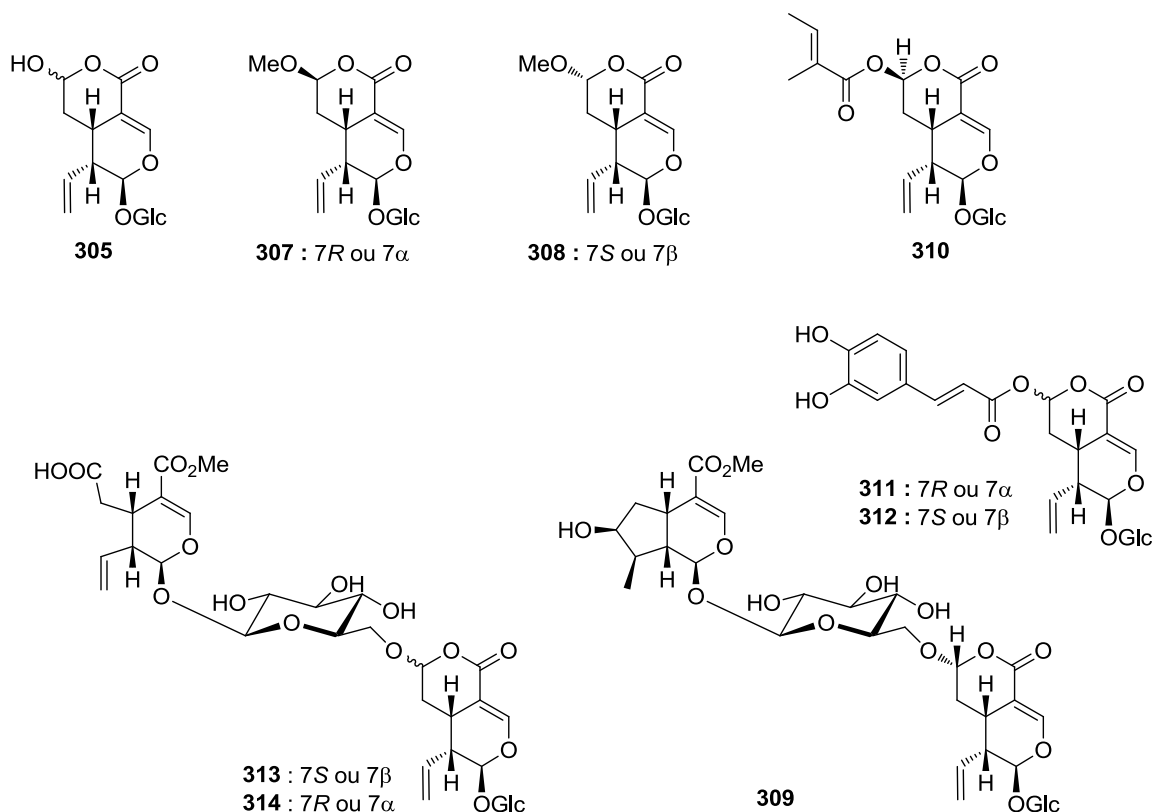


Schéma 165 : Iridoïdes naturels contenant une fonction lactol

Ces données peuvent nous permettre de définir la configuration absolue du composé **303**, cependant sur le spectre RMN 1H , le H7 sort sous forme de singulet large. De plus la constante de couplage entre

les protons H6 et le proton H7 n'est pas observée. Cela peut s'interpréter par le fait que le composé **303** est en équilibre entre les formes α et β via l'ouverture et la refermeture du cycle. Cet équilibre serait trop rapide pour être observé par RMN à température ambiante.

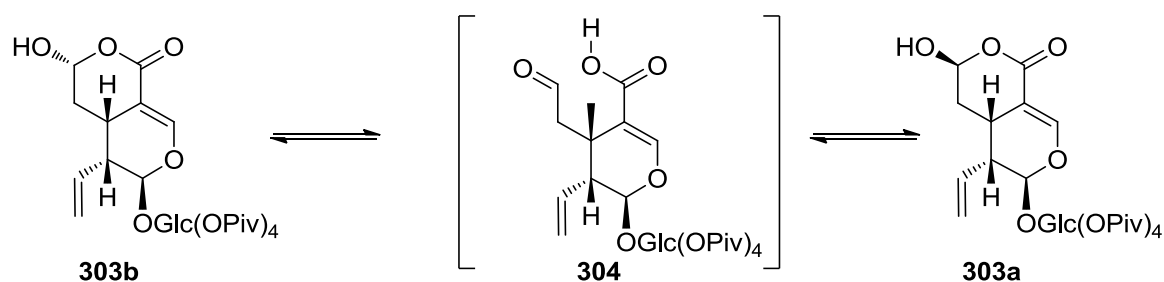


Schéma 166 : Équilibre entre **303b** et **303a** via **304**

Ainsi nous garderons la forme lactol sans la configuration absolue du centre asymétrique en C7 pour décrire le composé **303**.

➤ Optimisation de l'étape d'oxydation de **202** pour l'obtention du perpivaloylsweroside (**299**). Afin d'augmenter le rendement de la réaction d'oxydation de **202** et pour limiter l'utilisation de réactif toxique au chrome comme le PDC, nous avons choisi d'utiliser un oxydant de type periodinane. En effet ces oxydants contenant un iode hypervalent présentent plusieurs avantages par rapport à des agents à base de chrome ou de DMSO tels que : des conditions opératoires douces (température ambiante et pH neutre), des temps de réaction plus brefs, des rendements plus élevés et des protocoles plus simples. Nous avons préféré le réactif de Dess-Martin **315** (ou DMP) car il présente une meilleure solubilité dans les solvants organiques³⁰⁷ que d'autres periodinanes tels que l'IBX (**316**) ou PhICl₂ (**317**).

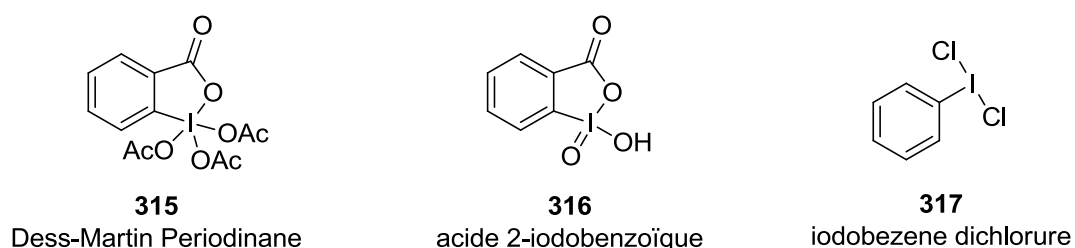
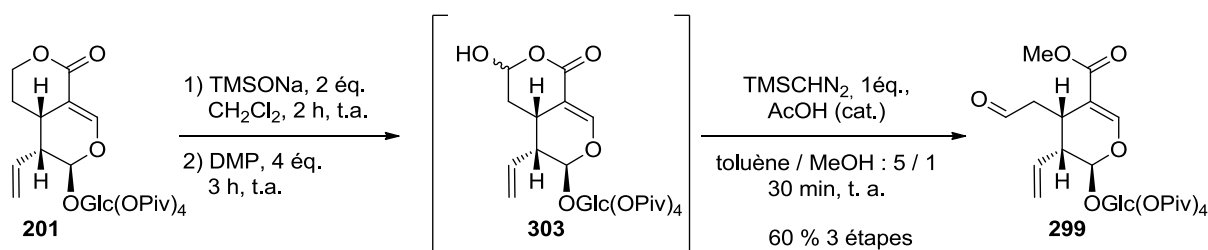
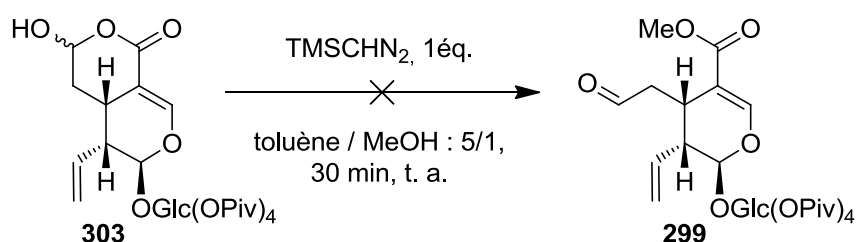


Schéma 167 : Différents oxydants de type periodinane

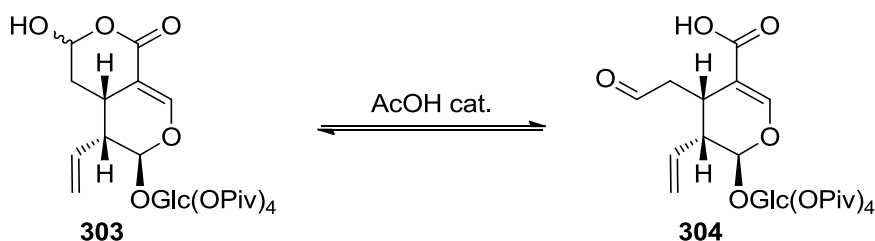
Après ouverture de la lactone **201** par deux équivalents de TMSNa, le DMP est directement ajouté au milieu réactionnel. Il est nécessaire d'utiliser un excès de DMP pour que la réaction soit totale. En effet une partie du DMP est hydrolysée par le TMSNa en excès. Après conversion totale (environ 2 h) la réaction est arrêtée par l'ajout d'une solution de Na₂S₂O₃ et de NaHCO₃. Le brut obtenu après évaporation de la phase organique est directement méthylé par l'ajout de TMSCHN₂ en présence d'une quantité catalytique d'acide acétique. Après 30 min la réaction est arrêtée par l'ajout de silice et le composé **299** est isolé avec un rendement global de 60 % en trois étapes.

Schéma 168 : Méthylation directe de **303**

Il est à noter que l'utilisation de l'acide acétique en quantité catalytique est absolument nécessaire pour effectuer la méthylation. En effet lorsque le TMSCHN₂ est ajouté directement sur le brut ou sur le composé **303** isolé, la méthylation de l'acide carboxylique n'est pas observée. La cyclisation sous forme de lactol est très stable.

Schéma 169 : **303** n'est pas méthylé sans AcOH

L'ajout d'acide acétique facilite l'ouverture de l'hémiacétal cyclique en acide carboxylique et en aldéhyde. La méthylation concomitante de l'acide déplace l'équilibre et l'acide acétique peut être utilisé en quantité catalytique.

Schéma 170 : Ouverture du lactol **303** *in-situ* par AcOH

Cette méthode en trois étapes séquentielle présente plusieurs améliorations par rapport à la méthode précédemment réalisée¹⁸⁷ :

- Deux étapes de moins.
- L'ensemble du procédé de conversion peut être effectué en une journée à l'échelle du gramme.
- Une seule étape de purification sur chromatographie de gel de silice est nécessaire.
- Utilisation de réactifs moins toxiques et moins dangereux.

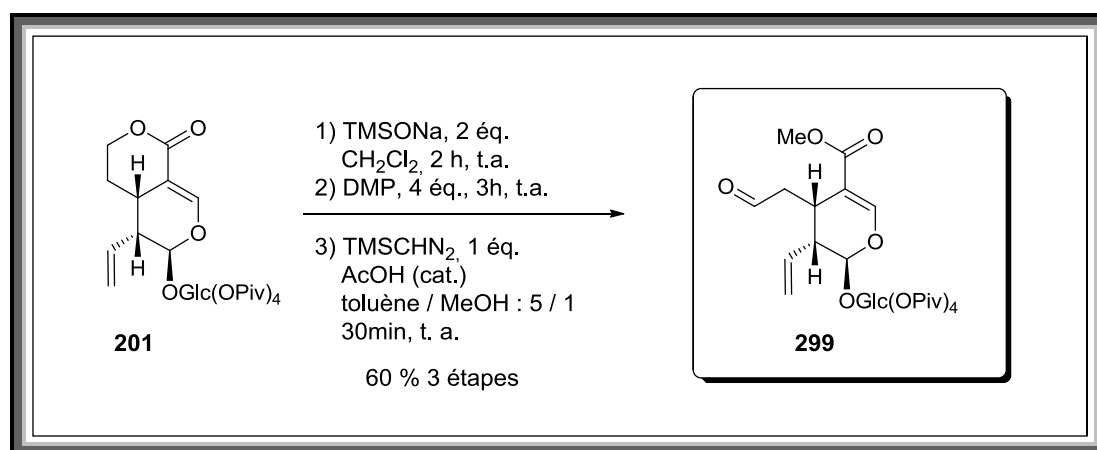


Schéma 171 : Résumé de la méthode séquentielle de conversion de **201** en **299**

Le composé **299** peut être déprotégé par l'action du méthanolate de sodium dans le méthanol. Le milieu réactionnel est ensuite neutralisé par une résine échangeuse d'ion acide permettant l'accès au sécologanoside avec un rendement de 73 %. Les données spectrales du composé obtenu sont identiques à celle d'un échantillon authentique de sécologanoside.

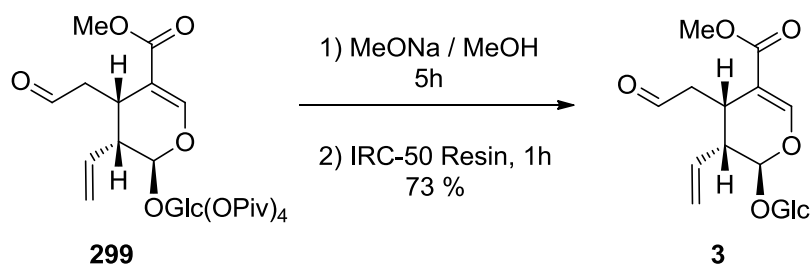
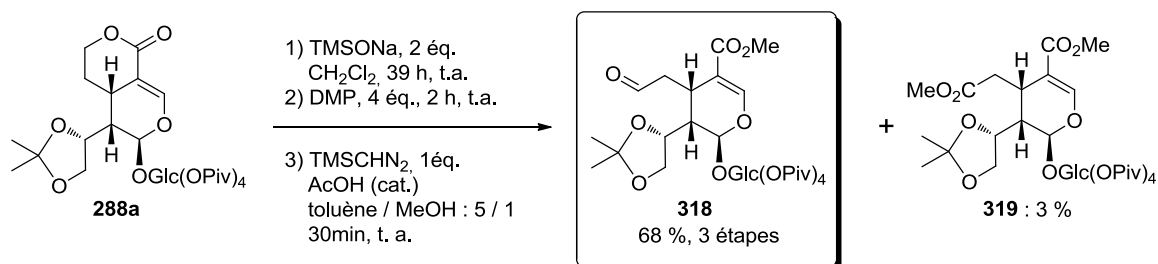


Schéma 172 : Déprotection de **299**

Nous avons mis au point une méthode rapide et efficace de conversion du sweroside (**4**) en sécologanoside (**3**). Ainsi à partir d'une seule source végétale il est possible d'avoir rapidement accès à une plus grande quantité de sécologanoside (**3**). Nous allons maintenant utiliser cette méthode sur les dérivés non naturels du sweroside **287** et **289** permettant l'obtention d'analogues du sécologanoside.

1.2 Accès aux dérivés dihydroxylés du sécologanoside

Nous avons précédemment montré que la lactone des composés **287** peut être ouverte lorsque le diol est protégé par un acétonide. Aussi nous avons appliqué la méthode séquentielle de conversion du sweroside (**4**) en sécologanoside (**3**) aux composés protégés **288a** et **288b**. Le composé **288a** est mis en réaction avec le TMSONa dans le CH₂Cl₂. Lorsque la réaction est complète (39 h) le DMP est ajouté au milieu réactionnel, après deux heures et le work-up usuel, la méthylation par le TMSCHN₂ permet l'obtention du composé **318** avec un rendement global de 68 % sur trois étapes.

Schéma 173 : Conversion de **288a** en **318**

Au cours de ce procédé un produit minoritaire (**319**) provenant d'une sur-oxydation de la fonction alcool s'est également formé.

Les trois étapes séquentielles appliquées au dérivé **288b**, ont permis la formation de **320** avec un rendement de 52 %, sans traces de composé de sur-oxydation. L'étape d'ouverture de lactone est plus rapide qu'avec **288a**.

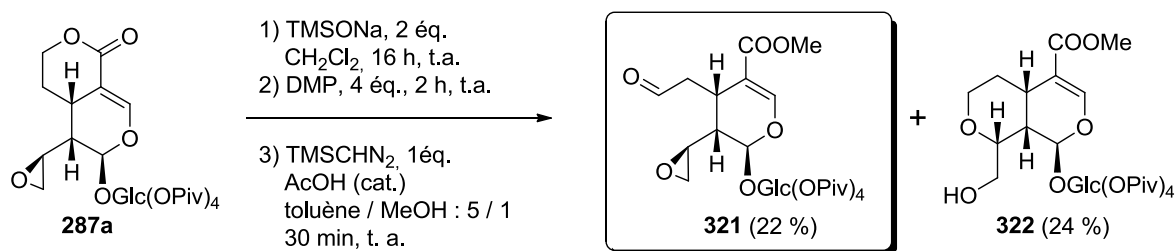
Schéma 174 : Conversion de **288b** en **320**

Les composés **318** et **320** sont des nouveaux dérivés du sécologanoside et constituent des nouveaux synthons fonctionnalisés en C7, C8, C10 et C11 qui ne peuvent pas être obtenus facilement à partir du sécologanoside (**3**).

1.3 Accès aux dérivés époxydés du sécologanoside

Précédemment, nous avons montré que la lactone des époxydes **289a** et **289b** peut être sélectivement ouverte par le TMSNa. La méthode séquentielle de conversion du sweroside (**4**) en sécologanoside (**3**) a donc été appliquée aux composés **289a** et **289b**.

Le composé **289a** est converti en analogue de sécologanoside **321** avec un rendement de 22 %. Lors de ce procédé nous n'avons pas réussi à minimiser la formation du composé **322** (24 %). Cependant aucun composé montrant une oxydation de l'alcool primaire de **322** n'a été isolé.

Schéma 175 : Conversion de **287a** en **321**

Concernant le composé **289b**, la conversion en analogue de sécologanoside **323**, procède avec un faible rendement de 20 %. Bien que nous n'ayons pas observé de composé de type **322** issu de l'ouverture de l'époxyde, nous avons isolé le composé **324** comme sous-produit avec un rendement de 12 %. Ce composé est issu de la sur-oxydation de l'aldéhyde en C7 en acide carboxylique suivi de la méthylation par le TMSCHN₂.

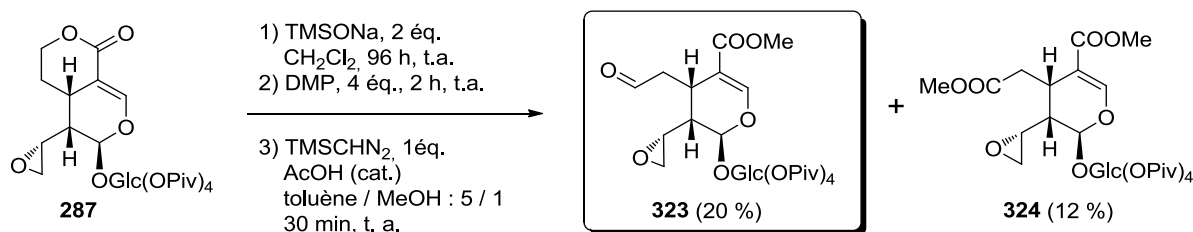


Schéma 176 : Conversion de **287b** en **323**

Les composés **321** et **323** sont des nouveaux dérivés du sécologanoside qui ne peuvent pas être obtenus à partir du sécologanoside. Ces composés originaux sont obtenus facilement et avec un rendement moyen d'environ 20 % sur 3 étapes.

2. Synthèse d'un nouvel analogue isomérique du sécologanoside à partir de l'oleuropéine

Pour obtenir une petite chimiothèque de nouveau sécoïridoïdes et pour obtenir un nouvel analogue isomérique de sécologanoside de type **7**, nous allons étudier la réactivité des esters de l'oleuropéine (**2**). Nous présenterons ensuite nos travaux concernant la réactivité des doubles liaisons.

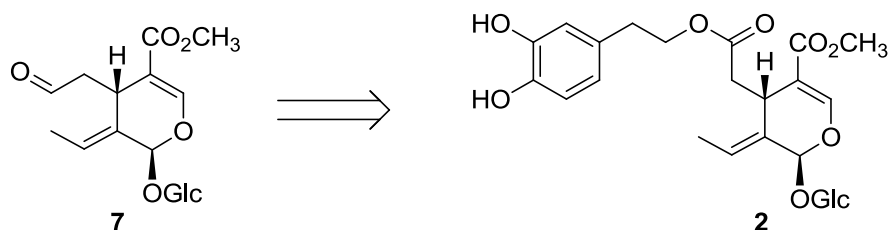


Schéma 177 : Obtention du composé cible **7** à partir de l'oleuropéine (**2**)

2.1 Réactivité de l'ester 3,4-dihydroxyphénylétique vs l'ester méthylique

L'objectif des différents essais effectués est de désymétriser les deux fonctions ester de l'oleuropéine : l'ester méthylique et l'ester 3,4-dihydroxyphénylétique.

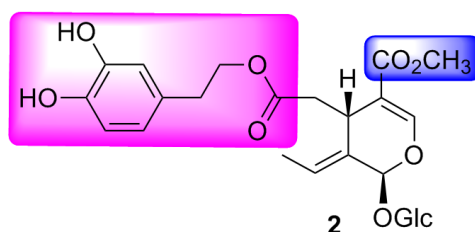


Schéma 178 : Les deux fonctions esters de l'oleuropéine (**2**)

2.1.1 Essai de réduction directe de l'oleuropéine

Afin d'obtenir directement la fonction aldéhyde en C7, différents réducteurs ont été testés. Nous avons d'abord envisagé de réduire l'oleuropéine (**2**), puis l'oleuropéine protégée par des groupements pivaloyles **325**.

2.1.1.a) Par NaBH_4

Nous avons vu précédemment que Bianco *et al.*⁹⁹ obtiennent l'oleuropéinol (**170**) avec un rendement de 85 % lorsque l'oleuropéine (**2**) est mis en réaction avec 20 équivalents de NaBH₄.

Afin d'obtenir une régiosélectivité de la réduction, nous avons essayé de diminuer le nombre d'équivalents de NaBH_4 . Cependant il n'y a pas de réaction avec 5 équivalents dans l'eau, ni avec 10 équivalents dans le MeOH ou le THF. Lorsque la réaction est conduite avec 5 équivalents de NaBH_4 dans un mélange THF / MeOH : 6 / 1, nous observons la formation du composé **177** avec un rendement de 83 %. Cette observation nous permet de vérifier que l'ester 3,4-dihydroxyphénéthylrique est plus réactif que l'ester méthylrique face à la réaction de saponification.

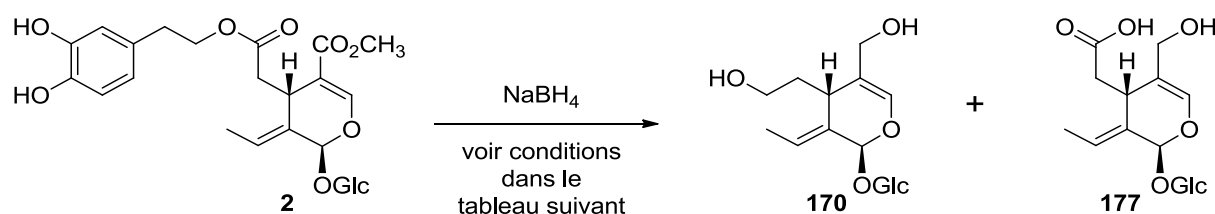


Schéma 179 : Formation de **170** et **177** par réaction du NaBH₄ sur l'oleuropéine (**2**)

Solvant	Température	Equivalents	Résultats
H ₂ O	0°C puis t.a.	5	Pas de réaction
THF / MeOH : 6/1	0°C puis t.a.	5	Acide 177 , r = 83 %
H ₂ O	0°C puis t.a.	20	Diol 170 , r = 68 %
MeOH	0°C puis t.a.	10	Pas de réaction
THF	0°C puis t.a.	10	Pas de réaction

Tableau 11 : Comparaison des conditions de réduction de l'oleuropéine **2** par NaBH₄

Bien qu'elle ne soit pas sélective cette réaction nous permet de mieux comprendre la réactivité de l'oleuropéine (**2**). Les esters de l'oleuropéine (**2**) sont très peu réactifs, en effet il est nécessaire d'utiliser jusqu'à 20 équivalents de NaBH_4 pour que la réaction de réduction soit complète.

Lorsque nous avons reproduit les mêmes conditions que Bianco, nous obtenons le diol **170** est avec un rendement de 68 %.

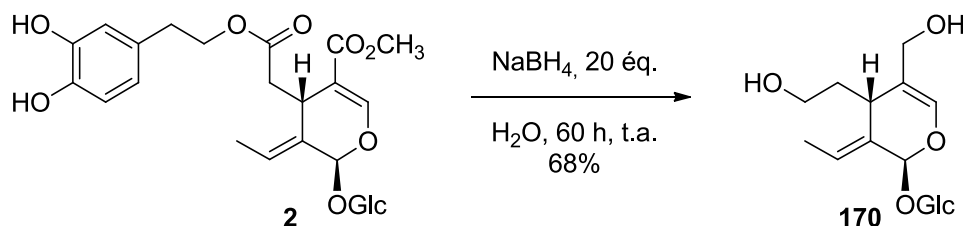


Schéma 180 : Réduction non sélective de l'oleuropeine (**2**) par le NaBH_4

Nous avons aussi envisagé de réduire l'oleuropeine perpivaloylé **325** par l'action du NaBH_4 . Ainsi l'oleuropeine (**2**) est mis en réaction avec le chlorure de pivaloyl et la 4-DMAP dans un mélange pyridine / CH_2Cl_2 : 1/1, pour donner le perpivaloyloleuropeine (**325**) avec un rendement de 85 %.

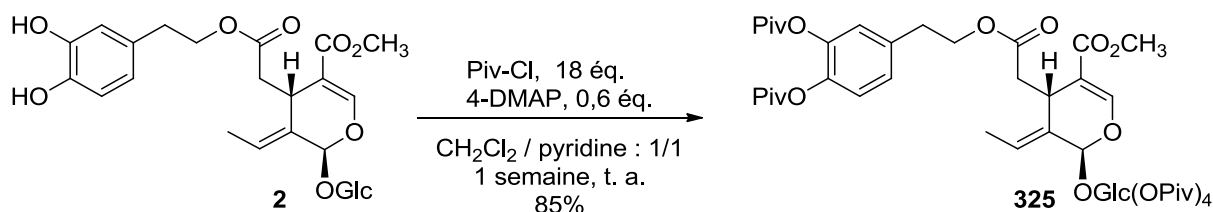


Schéma 181 : Pivaloylation totale de l'oleuropeine (**2**)

La réaction peut être réalisée sur une échelle de 20 g et le composé **325** peut être recristallisé dans le méthanol chaud. La purification du composé **325**, relativement peu polaire par rapport au produit de départ, permet d'éliminer facilement les impuretés polaires présentes dans l'oleuropeine (**2**) par chromatographie.

Lorsque le composé **325** est mis en réaction avec 5 équivalents de NaBH_4 dans un mélange THF / MeOH pendant 24h, le composé **326** est isolé avec un rendement de 83%. Ainsi les groupements hydroxyle du phénol sont sélectivement déprotégés par le NaBH_4 , tandis que l'ester méthyle, l'ester 3,4-dihydroxyphénylétique et les esters pivaloyles sur le glucose ne sont pas déprotégés.

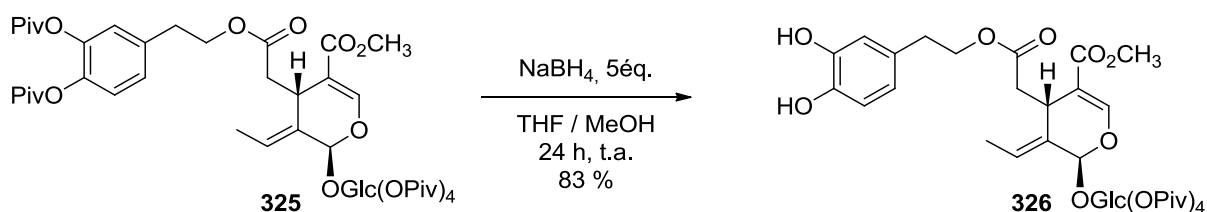


Schéma 182 : Déprotection sélective du catéchol de **325**

L'utilisation du NaBH_4 ne permet pas de réduire sélectivement les fonctions esters de l'oleuropeine (**2**), ni celles du perpivaloyloleuropeine (**325**). Cependant cela nous a permis d'observer la différence de réactivité entre les esters en C7 et en C11 face à la saponification. De plus nous avons pu isoler le 2',3',4',6'-O-tetrapivaloyloleuropeine (**326**) par déprotection sélective des phénols par NaBH_4 . Nous

allons donc voir les essais de réductions par des hydrures d'aluminium, ces réactions devant être réalisées dans des solvants aprotiques comme le THF, le substrat de départ sera le perpivaloyloleuropéine (**325**).

2.1.1.b) Par LiAlH_4

La réaction de **325** avec le LiAlH_4 dans le THF anhydre conduit à une dégradation du substrat de départ. Aucun composé n'a pu être isolé.

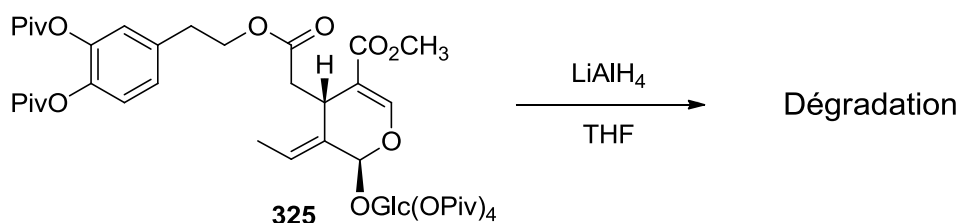


Schéma 183 : Le LiAlH_4 dégrade le perpivaloyloleuropéine (**325**)

2.1.1.c) Par le DIBAL-H

Le DiBAL-H est un réactif qui est décrit pour réduire sélectivement les esters en aldéhydes^{308,309}. Cependant le composé **325** ne commence à réagir qu'après addition de 4 équivalents de DiBAL-H. Aucune sélectivité n'est alors observée car le milieu se dégrade rapidement.

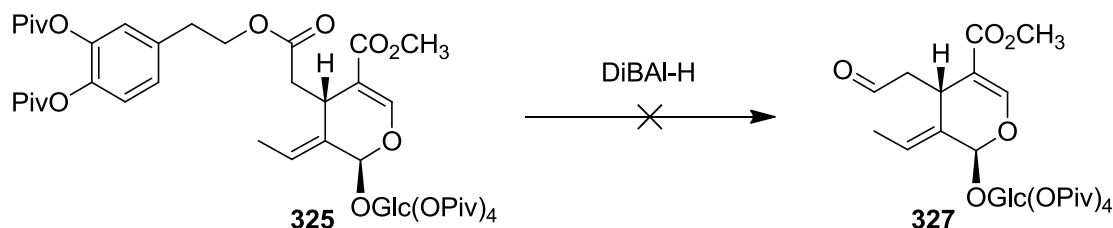


Schéma 184 : Le DiBAL-H ne permet pas la réduction sélective du perpivaloyloleuropéine (**325**)

Ainsi la réduction directe et sélective de l'ester en aldéhyde du C7 de l'oleuropéine (**2**) n'a pas pu être effectuée. Cependant nous avons pu constater que la saponification sélective de l'ester en C7 est possible par l'action d'une base. Nous allons donc développer une stratégie permettant d'accéder à l'aldéhyde **327** via une saponification sélective de l'ester 3,4-dihydroxyphénéthyl.

2.1.2 Saponification sélective de l'ester phénolique

2.1.2.a) Traitement de l'oleuropéine par la soude

A partir de l'oleuropéine (**2**), l'oléoside-11-méthyle ester (**177**) est obtenu par saponification sélective par NaOH selon la méthode d'Hanessian¹⁰⁸. Malgré de nombreux essais le meilleur rendement que nous avons obtenu est de 78 % alors qu'Hanessian décrit un rendement de 85 %.

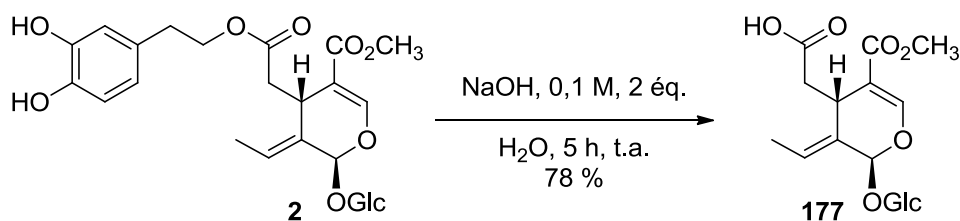


Schéma 185 : Saponification sélective de l'oleuropéine **2** par NaOH

Cette réaction ayant lieu dans l'eau avec la soude comme réactif, elle est particulièrement intéressante comme méthode verte. Cependant la purification du composé **177** est difficile à cause de la forte polarité du composé et des sous-produits proche en polarité, ainsi il est nécessaire d'effectuer plusieurs colonnes chromatographiques en éluant le produit très lentement ce qui rend le procédé très long.

Enfin lorsque nous avons essayé de protéger le glucose de **177** par des groupements pivaloyles, les conditions réactionnelles conduisent à la dégradation du substrat de départ.

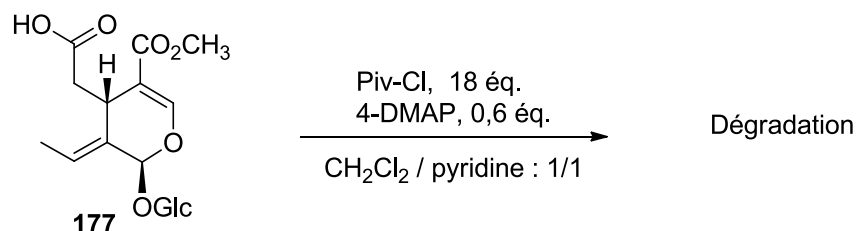


Schéma 186 : Les conditions de la réaction de pivaloylation conduisent à la dégradation du composé **177**

2.1.2.b) Traitement du perpivaloyloleuropéine (**325**) par le DBU

Nous avons également envisagé d'effectuer la saponification sélective à partir du composé protégé **325**. Lorsque l'oleuropéine (**2**) est perpivaloylé, la saponification sélective de l'ester 3,4-dihydroxyphénéthyle peut être effectuée par le DBU. Cette base encombrée ne peut pas saponifier les groupements pivaloyle sur le glucose²⁹⁹. Malheureusement la réaction entre le perpivaloyloleuropéine (**325**) et 5 équivalents de DBU permet d'isoler l'acide **328** avec un rendement médiocre de 30 %.

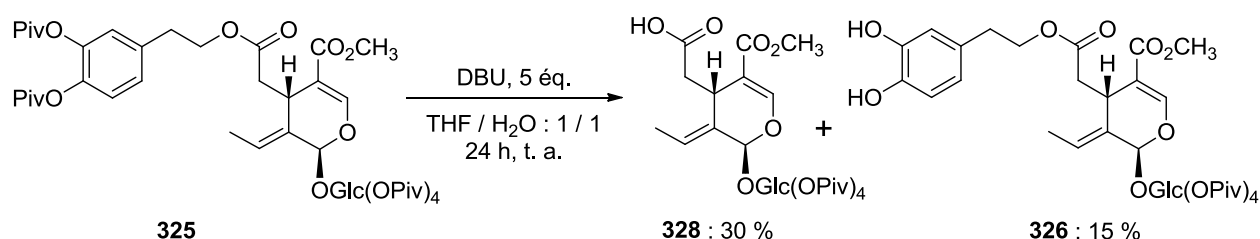
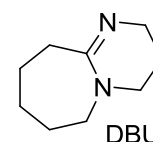


Schéma 187 : Saponification sélective de **325** par le DBU

Plusieurs raisons peuvent expliquer ce faible rendement, d'une part la réaction n'est pas complète et l'ajout de DBU supplémentaire ne permet pas d'améliorer la conversion. Le mélange réactionnel est

alors constitué du produit de départ **325**, du composé attendu **328** et du composé **326**. Le composé **326** est le composé intermédiaire de la réaction. En effet les pivaloyles phénoliques sont hydrolysés en premier de par la relative acidité des hydroxyles phénoliques ($pK_a = 9,5$). D'autre part la séparation des composés **326** et **328** du mélange réactionnel est difficile. Bien que possédant une différence de R_f significative ($\Delta R_f = 0,1$; CH_2Cl_2 / $MeOH$: 95/5), les produits ont tendance à co-éluer. Ce phénomène est probablement dû à la présence de DBU résiduel dans le milieu réactionnel même après traitement aqueux acide.

Afin d'améliorer le rendement de cette réaction nous avons choisi d'utiliser le TMSNa. Comme nous l'avons vu précédemment, cette base ne déprotège pas les groupements pivalyle sur le glucose.

2.1.2.c) Traitement du perpivaloyloleuropéine par le TMSNa

La réaction du composé **325** avec 3 équivalents de TMSNa permet d'obtenir le composé **328** avec un rendement isolé de 60 %.

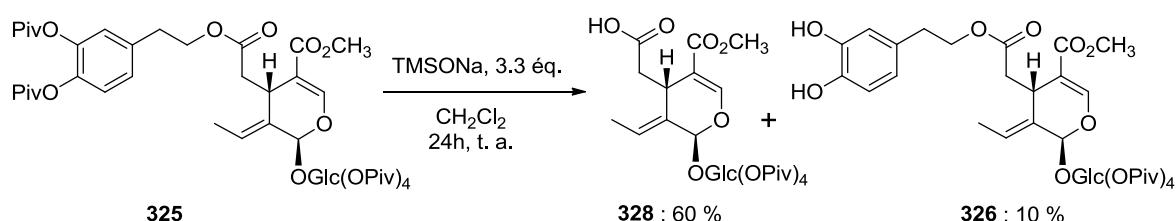


Schéma 188 : Saponification sélective de **325** par le TMSNa

Bien que la conversion ne soit pas complète, la présence du composé **326** dans le milieu réactionnel ne pose pas de problème de purification et les deux composés **326** (10 %) et **328** (60 %) peuvent cette fois être facilement séparés sur une colonne chromatographique sur gel de silice.

Cette méthode a été appliquée avec le même rendement sur plusieurs grammes permettant ainsi de différencier les deux fonctions esters du perpivaloyloleuropéine (**325**). Ces deux fonctions carboxyliques différenciées du composé **328** en font un nouveau synthon utilisable en synthèse.

2.2 Obtention du 9-dehydro-10-(H)-perpivaloylsécologanoside

Afin d'obtenir le composé attendu **299**, il est maintenant nécessaire de réduire sélectivement l'acide carboxylique.

2.2.1 Réduction sélective de l'acide carboxylique

La méthode de Lane *et al.*^{310,311} qui utilise le $BH_3.SMe_2$ comme réducteur sélectif de la fonction acide carboxylique a été employée pour la réduction des composés **328** et **177**. Ces conditions se sont révélées plus appropriées pour la réduire le composé **328**. En effet, l'alcool **329** est formé avec un

rendement de 60 % en deux heures alors que la réaction ne démarre pas en faisant réagir **177** sur 2 jours et avec un excès de $\text{BH}_3 \cdot \text{SMe}_2$.

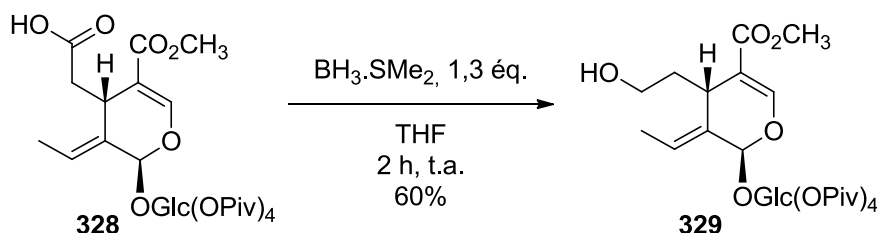


Schéma 189 : Réduction sélective de **328**

Il est à noter qu'aucune relactonisation du composé **329** n'est observée, même après conservation du produit plusieurs mois à température ambiante aucune trace du composé **330** n'est observée.

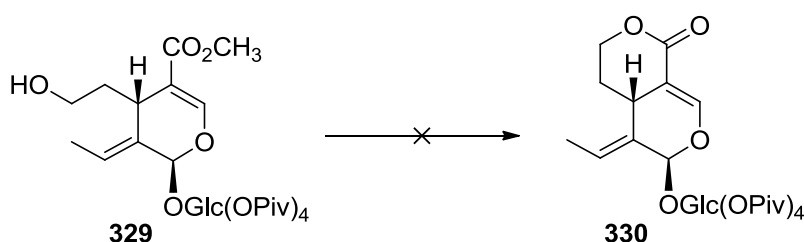


Schéma 190 : Le composé **329** ne relactonise pas tout seul.

Nous pouvons penser que la présence de la double liaison exocyclique trisubstituée empêche la lactonisation.

2.2.2 Oxydation de l'alcool

L'alcool du composé **329** a ensuite été oxydé selon la méthode de Czernecki *et al.*³⁰⁰. Le 9-déhydro-10-(*H*)-perpivaloylsécologanoside (**327**) est formé avec un rendement de 70 % à partir de **329** et avec un rendement global de 21 % à partir de l'oleuropeine (**2**).

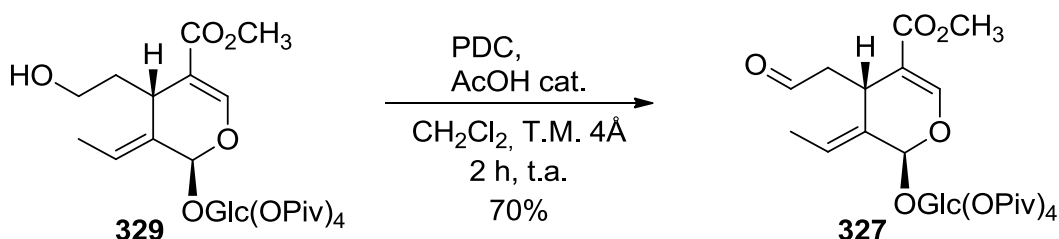
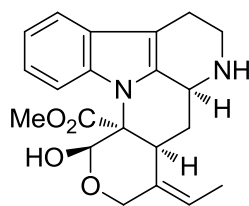


Schéma 191 : Formation de **327** par oxydation de **329**

Le composé **327** représente un nouveau type d'analogue isomérique du sécologanoside, de plus le glucose étant déjà protégé il peut être directement engagé dans des synthèses chimiques classiques. Enfin, bien qu'il existe des alcaloïdes indolo-monoterpéniques possédant une double liaison exocyclique trisubstituée comme la talbotine (**331**)³¹², aucun aldéhyde de type **327** n'a été jusqu'à présent isolé dans la nature. Ce synthon original **327** pourrait donc être utilisé pour la synthèse de dérivés de la talbotine.



331
talbotine

Schéma 192 : structure de la talbotine (**331**)

2.3 Etude de la réactivité de la double liaison exocyclique

Après avoir validé l'approche nous permettant d'accéder à un analogue du sécologanoside à partir de l'oleuropéine (**2**). Nous avons envisagé d'étudier la réactivité des doubles liaisons et plus particulièrement celle de la double liaison exocyclique. En effet, la synthèse de composés fonctionnalisés en C8 et/ou C9, couplée avec la méthode de formation de l'aldéhyde en C7, permettrait l'obtention de nouveaux analogues de sécologanoside. Pour cela nous avons étudié des réactions d'oxydation des doubles liaisons.

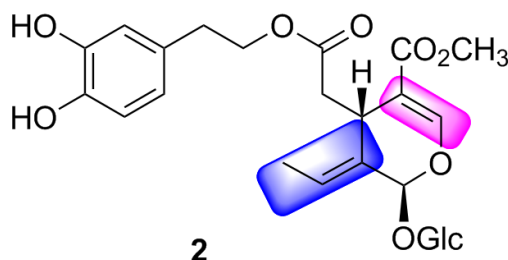


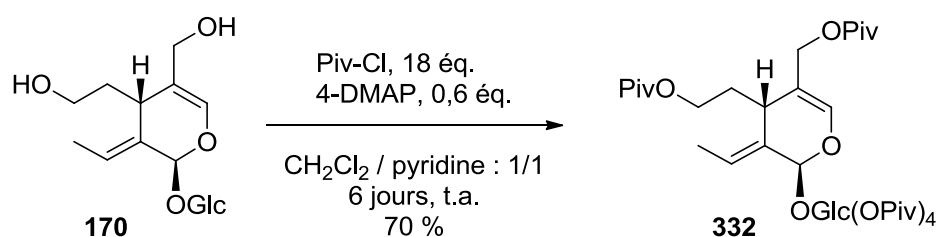
Schéma 193 : L'oleuropéine (**2**) possède une double liaison exocyclique et une double liaison conjuguée

2.3.1 Essai d'époxydation

L'époxydation de la double liaison exocyclique C8-C10 créerait deux nouveaux centres asymétriques de réactivité différente, qui pourront alors subir de nouvelles transformations structurales. Cependant, à notre connaissance, il n'y pas d'exemple d'époxydation des doubles liaisons de l'oleuropéine dans la littérature. C'est pourquoi, afin d'obtenir un époxyde en position C8-C9 nous avons essayé diverses conditions d'époxydation sur différents substrats.

D'une part sur les composés non protégés, comme l'oleuropéine (**2**) et l'oleuropéinol (**170**) d'autres parts, sur les composés protégés, comme le perpivaloyloleuropéine (**325**), l'acide **328**, l'alcool **329** et le perpivaloyloleuropéinol (**332**).

Le composé **332** est obtenu par pivaloylation de l'oleuropéinol (**170**) avec un rendement de 70 % après 6 jours de réaction.



Sch\u00e9ma 194 : Pivaloylation compl\u00e8te de **170**

Les diff\u00e9rents r\u00e9actifs utilis\u00e9s sont le peroxyde d'hydrog\u00e8ne, l'acide m\u00e9ta-chloroperbenzo\u00efque (mCPBA), l'acide perac\u00e9tique et l'eau de Javel dans les conditions de Katsuki-Jacobsen³¹³⁻³¹⁵.

De ces diff\u00e9rents essais, il s'est av\u00e9r\u00e9 que les compos\u00e9s de d\u00e9parts sont assez peu r\u00e9actifs car apr\u00e8s un temps de quelques heures de r\u00e9action (1-16h), il est possible de r\u00e9cup\u00e9rer entre 35 \u00e0 63 % de produit de d\u00e9part. Cependant au cours du temps de la r\u00e9action ils subissent une d\u00e9gradation essentiellement due \u00e0 des r\u00e9actions d'hydrolyses. En effet l'analyse par CCM montre l'apparition du glucose pivaloyl\u00e9 et de l'hydroxytyrosol (**176**).

n°	Substrat	réactifs	solvant	éq.	T (°C)	t.r.	Résultat
1	2	H ₂ O ₂ 30% NaOH	MeOH / H ₂ O	3 éq. 5éq.	t.a.	24 h	52 % de départ + dégradation
2	170	H ₂ O ₂ 30% NaOH	MeOH / H ₂ O	3 éq. 5 éq.	t.a.	24 h	dégradation
3	332	mCPBA 70 %	CH ₂ Cl ₂	2 éq.	t.a.	16 h	Formation de HL25 , observé en RMN ¹ H du brut
6	325	mCPBA 70 %	CH ₂ Cl ₂	2 éq.	t.a.	96 h	départ + dégradation
7	325	mCPBA 70 % NaHCO ₃	CH ₂ Cl ₂	2 éq.	t.a.	96 h	départ + dégradation
8	325	mCPBA 70 %	toluène	2 éq.	50 °C	48 h	départ + dégradation
9	325	mCPBA 70 %	toluène	5 éq.	80 °C	16 h	Mélange complexe 333 observé dans le brut en RMN ¹ H
10	325	NaOCl, catalyseur de Jacobsen (R,R)	CH ₂ Cl ₂	2 éq. 3 %mol	0°C puis t.a.	60 h	63 % de départ + dégradation
11	328	mCPBA 70 %	CH ₂ Cl ₂	2 éq.	t.a.	96 h	35 % de départ + dégradation
12	328	AcOOH 35 %	CH ₂ Cl ₂	2 éq.	t.a. puis 50 °C	16 h, puis 5 h	départ + dégradation
13	329	mCPBA 70 %	CH ₂ Cl ₂	1,3 éq.	t.a.	16 h	départ + dégradation
14	329	mCPBA 70 %	CH ₂ Cl ₂	2 éq.	t.a.	16 h	départ + dégradation
15	329	mCPBA 70 %	Toluène	2 éq.	50°C	15 h	dégradation

 Tableau 12 : Essais d'époxydation à partir de l'oleuropéine (**2**) et de ses dérivés

Lorsque le substrat de départ est **325**, nous n'observons pas de réaction avec le *m*CPBA dans le CH₂Cl₂ à température ambiante. Cependant après plusieurs heures, le produit de départ se dégrade que ce soit en présence de NaHCO₃ ou non. Cette dégradation est observable par l'apparition de plusieurs composés révélés en CCM, dont le glucose pivaloylé. Le caractère acide du *m*CPBA et de l'acide méta-chlorbenzoïque (*m*CBA) facilite cette dégradation par hydrolyse acide de la liaison osidique.

En revanche lorsque le composé **325** est mis en réaction avec le *m*CPBA dans le toluène à 80 °C, nous pouvons observer la formation plusieurs produits. L'analyse du brut réactionnel après traitement aqueux basique par RMN ¹H, ¹³C, COSY, HSQC et HMBC permet d'identifier dans le mélange un produit majoritaire **333**. Pour ce composé, l'ester 2,4-dipyvaloylphénethylque est toujours présent, mais nous observons que le proton H3 est plus blindé que dans le produit de départ avec un

déplacement chimique de 6,67 ppm soit un blindage de 0,69 ppm par rapport au produit de départ. Ce déplacement qui ne correspond pas à un proton sur un époxyde, montre que l'époxyde a été ouvert. Les carbones C3 et C4 sont à des déplacements chimiques de 88,4 et 82,7 ppm respectivement ce qui correspond bien à des carbones de type $-C-O-$. De plus, en HMBC, le carbone C3 corrèle avec le CO du *mCBA*, ce qui montre que l'attaque du *mCBA* s'est fait sur le carbone C3. Enfin nous pouvons observer que le proton H8 est fortement blindé avec un déplacement chimique de 3,40 ppm, et le carbone correspondant est à 58,4 ppm ce qui correspond à un époxyde. Nous proposons donc la structure suivante pour le composé **333**.

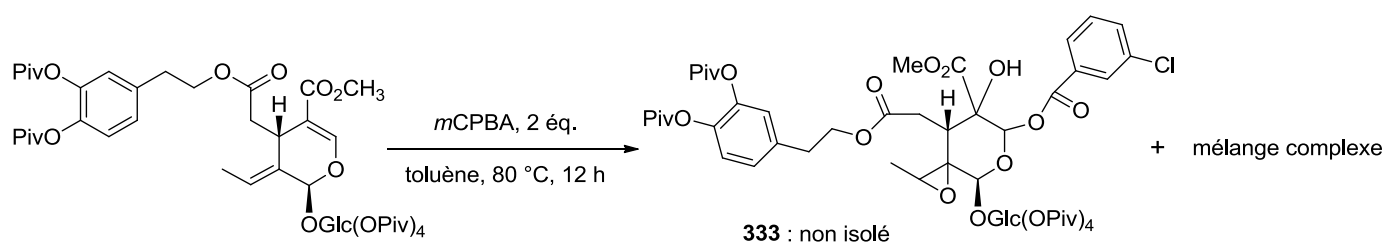


Schéma 195 : Formation du composé majoritaire **333** et à partir de l'oleuropeine (**2**) après réaction avec le *mCPBA*

A partir de ces observations, il semblerait la double liaison endocyclique soit la plus réactive envers la réaction d'époxydation, cette observation est cohérente avec les résultats de Mc Lean *et al.* pour l'époxydation du sécologanoside⁸².

Cependant l'époxyde formé doit être très réactif au point que le *mCBA* puisse s'additionner dessus. Enfin la double liaison exocyclique est aussi époxydée, il n'y a donc pas de sélectivité pour la réaction d'époxydation du composé **325**.

Dans le cas de la réaction entre le perpivaloyloleuropeine (**332**) et le *mCPBA* (entrée 3), un produit majoritaire est observé par RMN 1H dans le brut réactionnel. Ce composé pourrait correspondre au composé **334** pour lequel l'époxyde endocyclique aurait été ouvert par l'acide méta-chlorbenzoïque (*mCBA*) présent dans le milieu comme pour les composés. De plus l'analyse du brut par spectrométrie de masse montre un pic majoritaire correspondant à la masse molaire de **334**.

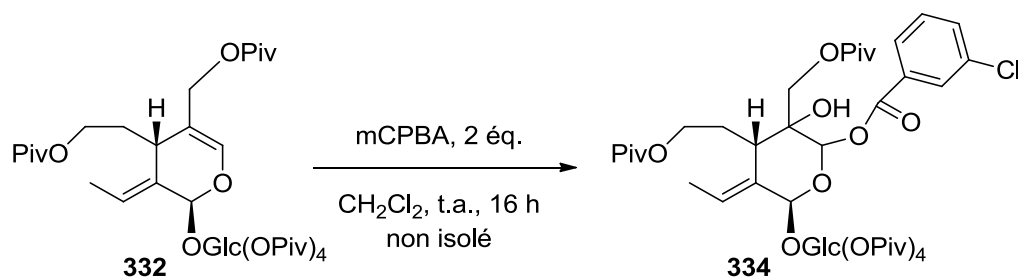


Schéma 196 : Réaction entre le *mCPBA* et le composé **332**

Malgré les différentes conditions utilisées, aucune sélectivité n'a pu être observée. Les composés que nous avons identifiés à l'issue des réactions d'époxydation de **325** et **332**, montre que la double liaison endocyclique est la plus réactive vis-à-vis des réactions d'époxydation. C'est pourquoi nous n'avons pas poussé plus loin les investigations concernant la réaction d'époxydation sur l'oleuropéine et ses dérivés.

2.3.2 Essai de dihydroxylation

Nous avons essayé d'effectuer la dihydroxylation de la double liaison exocyclique dans les conditions de Mc Lean⁸¹ modifiées que nous avons précédemment utilisées sur le sweroside (**4**). Lorsque le perpivaloyloléuropéine (**325**) est mis en réaction avec le tétroxyde d'osmium en quantité catalytique en présence de NMO dans un mélange THF / H₂O : 6 / 2,5 pendant 48 h à température ambiante la conversion n'est pas complète et nous observons essentiellement de la dégradation (sucre pivaloylé et dipivaloylhydroxytyrosol) sur CCM. Cependant l'analyse attentive du brut réactionnel par RMN 1D et 2D, après traitement aqueux, montre une faible quantité (< 10 %) d'un composé dont les protons H8 résonnent à 4,4 ppm et dont le déplacement du proton H3 est toujours de 7,37 ppm. Ce composé pourrait correspondre au diol **335**.

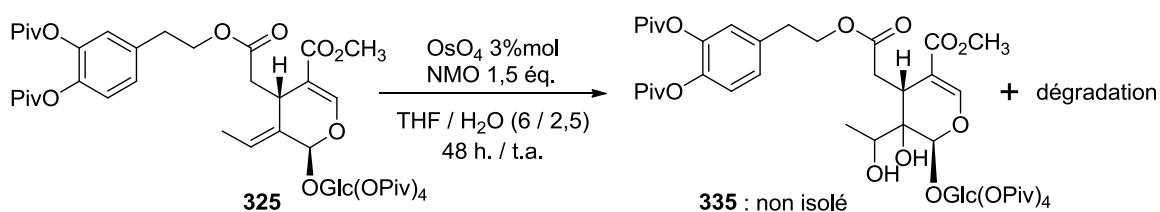


Schéma 197 : Réaction de dihydroxylation du perpivaloylleuropéine (325)

Faute de temps nous n'avons pas pu optimiser cette réaction. Malgré une forte proportion de dégradation, nous avons pu observer une sélectivité au niveau de la double liaison exocyclique. Ces résultats sont encourageants pour la mise au point de conditions optimisées permettant l'isolement du composé **335**.

3. Conclusion du chapitre 4

Au cours de ce chapitre nous avons mis au point une nouvelle méthode séquentielle d'obtention du sécologanoside (**3**) à partir du sweroside (**4**). Cette méthode rapide, sûre et efficace a été étendue aux dérivés fonctionnalisés en C8 et C10 du sweroside (**4**) permettant l'accès à des nouveaux synthons hautement fonctionnalisés de type sécologanoside. La mise au point d'une méthode de réduction sélective de l'oleuropéine (**2**) a permis l'obtention du 9-déhydro-10-(*H*)-perpivaloylsécologanoside (**327**), nouvel analogue isomérique du sécologanoside. Ces nouveaux aldéhydes peuvent être utilisés comme produits de départ pour la synthèse de nouveaux alcaloïdes indolo-monoterpéniques, par couplage avec la tryptamine ou ses dérivés.

De plus l'étude de la réactivité des doubles liaisons de l'oleuropéine (**2**) a permis de montrer que les réactions d'époxydation et de dihydroxylation sont peu sélectives et peu efficaces.

Enfin pour chacune de ces méthodes décrites les composés intermédiaires ont été isolés et constituent de nouveaux synthons chiraux utilisables en synthèse asymétrique. Grâce aux différentes méthodes de synthèse développées nous avons pu accéder à une grande diversité chimique à partir de matières premières chirales extraites de source renouvelable.

Dans la partie suivante nous allons utiliser ces études de réactivité de l'oleuropéine (**2**), du sécologanoside (**3**) et du sweroside (**4**) pour définir le composé de départ idéal pour la synthèse de composés naturels marins de types xénicanes. Nous verrons ensuite l'étude de différentes voies de synthèse pour aller vers l'obtention ces composés à partir du sweroside.

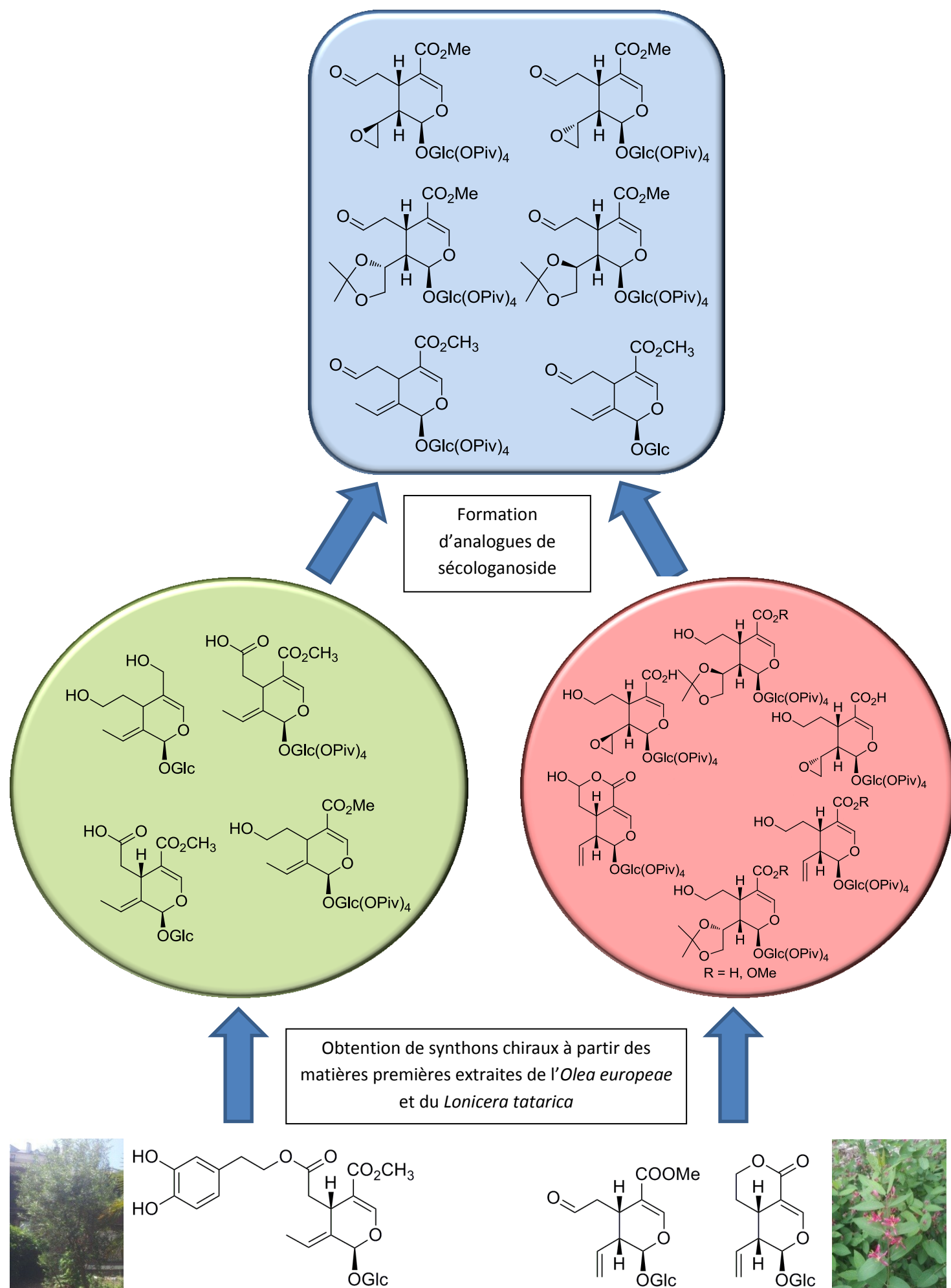


Figure 40 : Résumé de l'obtention d'analogues de sécologanoside et de synthons chiraux à partir de l'oleuropéine et du sweroside

Chapitre 5 Vers la synthèse de xénicanes à partir du sweroside

Ce chapitre est dédié aux différentes stratégies de synthèses devant conduire à l'obtention de diterpènes marins de la famille des xénicanes. Avant de présenter nos travaux, nous ferons un rappel bibliographique pour définir les squelettes de ces composés, repérer leurs sources naturelles et leurs activités biologiques et connaître les différentes synthèses totales décrites dans la littérature.

Sur la base des résultats obtenus à partir de l'étude de la réactivité de l'oleuropéine (2), du sécologanoside (3) et du sweroside (4), nous définirons le choix de la matière première « iridoïde » que nous allons utiliser pour les différentes stratégies de synthèse envisagées.

1. Les xénicanes

1.1 Introduction

Les xénicanes sont des diterpènes d'origine marine possédant un carbocycle à neuf carbones caractéristique.

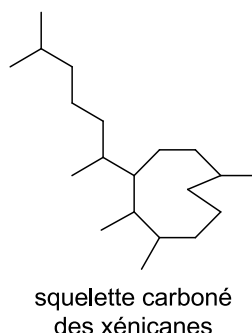


Schéma 198 : Structure carbonée des xénicanes

Le premier composé de type xénicanes à avoir été caractérisé est la xénicine (336) qui fut isolée en 1977 par Schwartz *et al.* à partir des coraux mous *Xenia elongata* (Classe : Anthozoa, Sous-classe : Octocorrallia, Ordre : Alcyonacea, Famille : Xenidiidae).



Figure 41 : Photos de coraux mous *Xenia elongata* (Jake Pehrson, <http://aquaticdatabase.com>)

La xénicine (336) se caractérise par un cycle dihydropyrane fusionné à un méthyl-*trans*-cyclononène via une jonction de cycle *trans*. Les auteurs ont pu déterminer la configuration absolue grâce à la

diffraction par rayon X. Ce type de cyclononène est rare dans la nature puisque jusqu'à présent seuls les sesquiterpènes de types caryophyllène (**337**) sont connus pour posséder aussi ce carbocycle à neuf carbones avec une double liaison trisubstituée *trans* et une double liaison exocyclique.

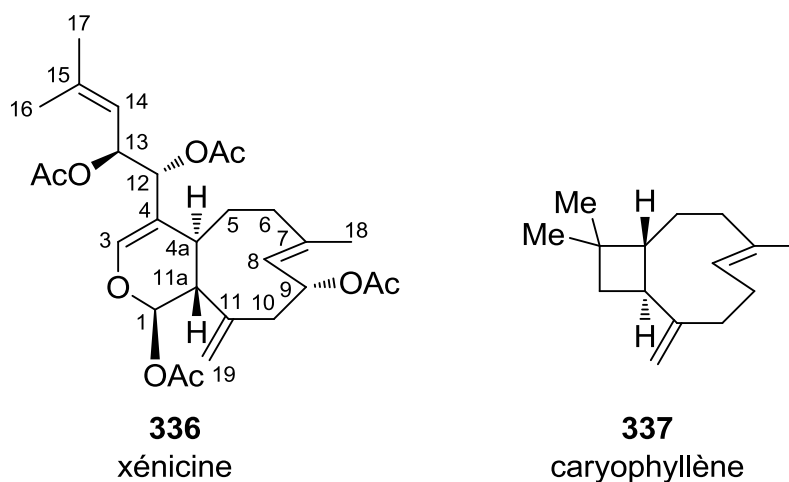


Schéma 199 : Structure de la xénicine (**336**) et du caryophyllène (**337**)

Depuis l'isolement de la xénicine (**336**) en 1977, plus d'une centaine de xénicanes différents ont été isolés. Ils peuvent être classés selon 5 groupes :

- les xénicines : possédant un squelette dihydropyrane-cyclononane de type 2-oxabicyclo[7,4,0]tridécanes³¹⁶
- les xéniolides : possédant un squelette δ -lactone-cyclononane³¹⁷. Ils peuvent être divisés en xéniolides A et xéniolides B³¹⁸
- les xéniaphyllanes : possédant un squelette de caryophyllène prénylé de type bicyclo[7,2,0]undécane³¹⁹
- les xéniéthers possédant un squelette tétrahydrofurane-cyclononane de type oxabicyclo[7,3,0]undécane³²⁰
- les azamilides possédant le cycle A sous forme ouverte et le cyclononène acétylé par des acides gras en C₁₆-C₂₀³²¹

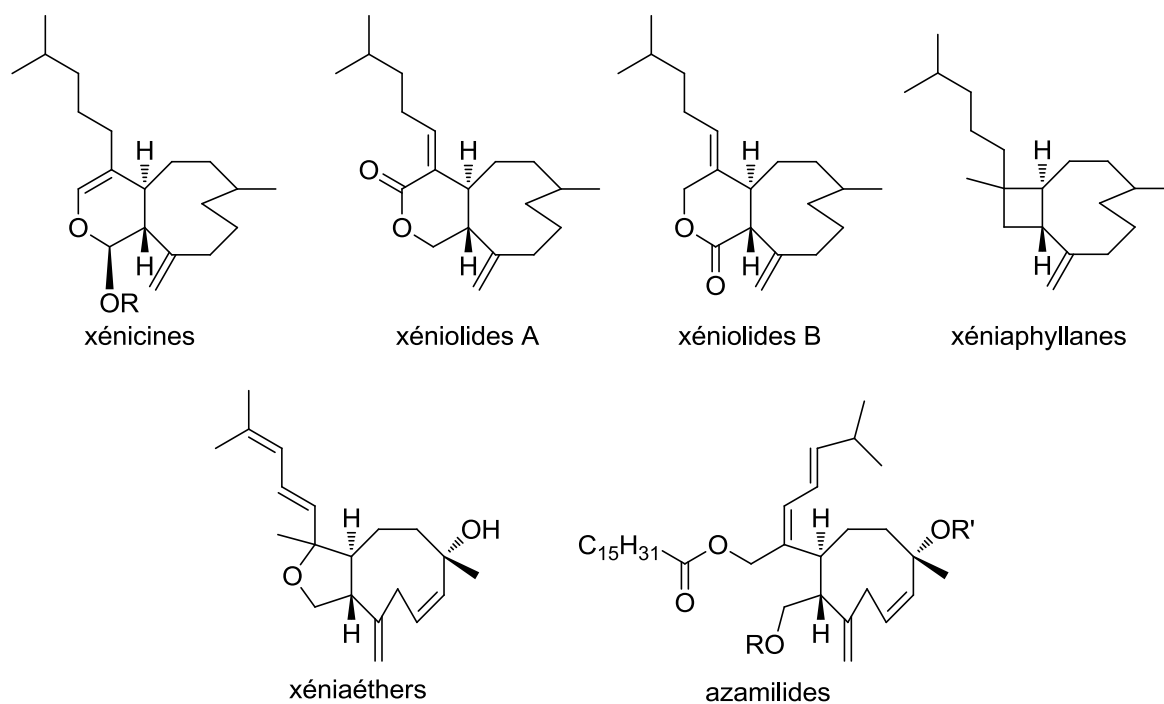


Schéma 200 : Les différents types de xénicanes

1.1.1 Les différentes sources de xénicanes

Après la première extraction de la xénicine (**336**) de *Xenia elongata*, d'autres xénicanes ont été isolés de différents ordres de coraux : Alcyonacea, Helioporacea, Stolonifera, Gorgonacea. Ils ont aussi été isolés dans des algues de l'ordre des Dictyotales. Ces diterpènes sont généralement isolés avec un faible rendement de l'ordre de 0,0005 % à 0,3 % et ne peuvent pas être extraits en grandes quantités à partir des coraux ou des algues.

Le tableau suivant montre les différents coraux dont ont été isolés des xénicanes :

Ordre	Famille	Genre	Espèce	Réf.
Alcyonacea	Xeniidae	<i>Xenia</i>	<i>elongata</i>	316
		<i>Xenia</i>	<i>macrospiculata</i>	317,322
		<i>Xenia</i>	<i>obscuronata</i>	319
		<i>Xenia</i>	<i>membranacea</i>	323–326
		<i>Xenia</i>	<i>garciae</i>	327
		<i>Xenia</i>	<i>florida</i>	328–330
		<i>Xenia</i>	<i>umbellata</i>	331,332
		<i>Xenia</i>	<i>novaebritanniae</i>	333
		<i>Xenia</i>	<i>viridis</i>	334
		<i>Anthelia</i>	<i>edmonsoni</i>	335
		<i>Anthelia</i>	<i>glauca</i>	336,337
		<i>Cespitularia</i>	<i>hypotentaculata</i>	338
		<i>Asterospicularia</i>	<i>laurae^b</i>	339–342
	Alcyoniidae	<i>Alcyonium</i>	<i>aureum</i>	337
	Nephtheiidae	<i>Capnella</i>	<i>thyrsoidea</i>	343
Gorgonacea ^c	Acanthogorgiidae	<i>Acalycigorgia</i>	<i>inermis</i>	344–346
		<i>Acanthogorgia</i>	<i>turgida</i>	347
Helioporacea	Helioporidae	<i>Heliopora</i>	<i>coerulea</i>	348
Stolonifera	Clavulariidae	<i>Clavularia</i>	<i>inflata</i> var. <i>luzoniana</i>	349

Tableau 13 Les différentes sources de xénicanes parmi les coraux

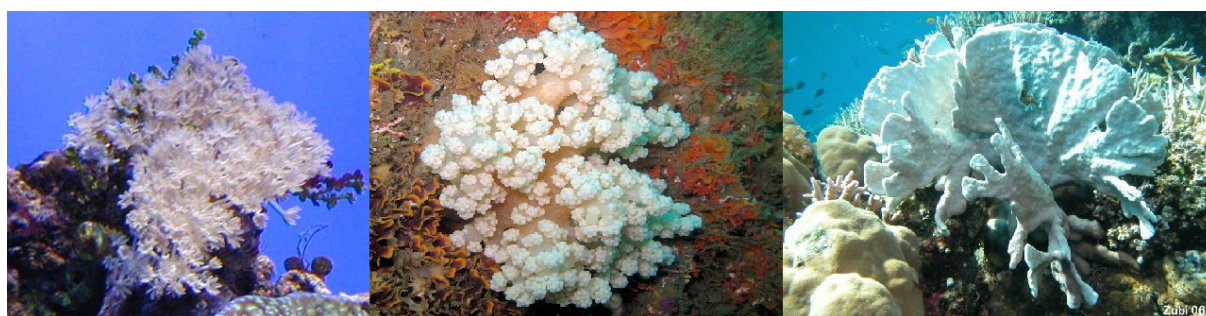


Figure 42 : Photos d'une espèce d'*Anthelia* (Mark Rosenstein), de *Capnella thyrsoidea* (Johan Swanepoel) et d'*Heliopora-coerulea* (<http://www.starfish.ch>)

^b Famille non définie mais proche des Xeniidae

^c Depuis 2002, tous les taxons de l'ordre Gorgonacea sont inclus dans l'ordre des Alcyonacea³⁵⁰.

Les xénicanes isolés d'algues ont tous été isolés dans la famille des Dictyotaceae et dans trois genres différents :

Ordre	Famille	Genre	Espèce	Réf.
Dictyotales	Dictyotaceae	<i>Dictyota</i>	<i>crenulata</i>	351
		<i>Dictyota</i>	<i>flabellata</i>	351
		<i>Dictyota</i>	<i>dichotoma</i>	352
		<i>Dictyota</i>	<i>divaricata</i>	353–356
		<i>Dictyota</i>	<i>ciliolata</i>	357
		<i>Dilophus</i>	<i>guineensis</i>	358
		<i>Dilophus</i>	<i>ligulatus</i>	359
		<i>Dilophus</i>	<i>fasciola</i>	360
		<i>Dilophus</i>	<i>spiralis</i>	360
		<i>Padina</i>	<i>pavonia</i> (L.) Gaill.	361

Tableau 14 Sources de xénicanes parmi les algues de la famille des Dictyotaceae



Figure 43 : Photos de *Dictyota dichotoma* (photo 1 : Alberto Romeo, photo 2 : Ignacio Bárbara)

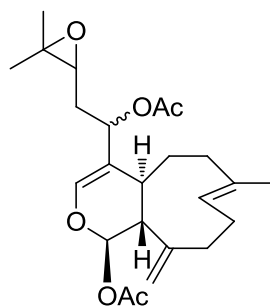
Malgré le nombre d'études grandissantes concernant les xénicanes, leur biosynthèse n'est pas clairement élucidée et ils ne constituent pas de marqueurs taxonomiques.

1.1.2 Activités biologiques des xénicanes

Ces diterpènes jouent un rôle défensif pour les coraux comme pour les algues. De nombreux tests biologiques ont été rapportés. Nous allons classer les différentes activités et les structures des molécules les plus actives.

1.1.2.a) Activité anticancéreuse

L'activité biologique la plus rapportée pour les xénicanes est la cytotoxicité. La nature des cellules cancéreuses testées, variant d'une étude à l'autre, rend difficile l'analyse des évaluations biologiques. Parmi les composés les plus actifs, l'équipe de Falkowski³⁶² a montré que le composé **338** induit l'apoptose sur des cellules épithéliales immortelles W2 (50 % de cellules mortes à 12 μ M) et inhibe de 61 % la croissance de cellules épithéliales D3 résistantes à l'apoptose (suppression des protéines pro-apoptotiques Bax et Bak) à une concentration de 12 μ M³⁶².

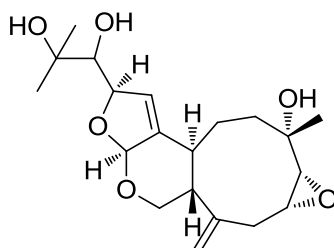


338

Schéma 201 : Structure de **338**

Nous pouvons également relever les activités des composés suivants :

- La novaxénicine B (**339**) qui induit l'apoptose dans des cellules de mammifères transformées (A-293) à une concentration de 1,25 $\mu\text{g/mL}$ ³³⁶.

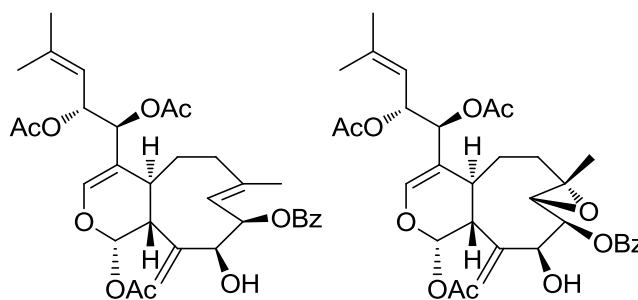


339

novaxénicine B

Schéma 202 : Structure de la novaxénicine B (**339**)

- Les florxénilides A (**340**) et B (**341**) sont cytotoxiques sur les cellules humaines de cancer du côlon (WiDr) et inhibent 50 % de la croissance des cellules cancéreuses après 72 h à des concentrations respectives de 2,7 et 1,9 $\mu\text{g/mL}$ soit 4,5 et 3,7 μM . Aucune inhibition de la croissance des cellules de carcinome épidermique (KB) ou de carcinome du foie humain (Hepa) n'a été observée³²⁸.



340

florxénilide A

341

florxénilide B

Schéma 203 : Structure des florxénilides A (**340**) et B (**341**)

- Le blumiolide C (**342**) et le xéniolide F (**343**) sont cytotoxiques contre les tumeurs de lignée cellulaire P-388 (leucémie lymphatique de souris) avec des IC_{50} respectives de 0,2 et de 4,7

$\mu\text{L/mL}^{318}$. De même le composé **344** (dont la structure est proche du florxénilide F) a montré une activité cytotoxique sur les lignées cellulaires P-388 avec une IC_{50} de $0,5 \mu\text{g/mL}^{349}$.

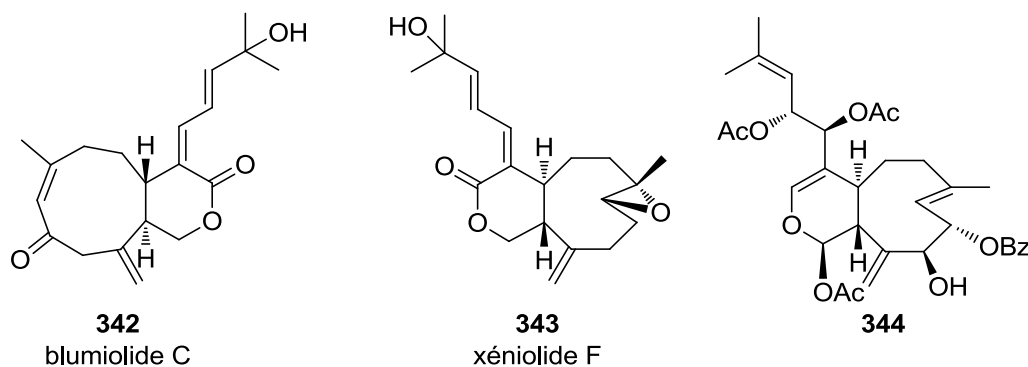


Schéma 204 : Structure du blumiolide C (**342**), du xéniolide F (**343**) et de **344**

- L'astérolaurine L (**345**) a montré une cytotoxicité modérée contre les lignées cellulaires cancéreuses Hep-2 (carcinome de larynx humain), Daoy (méduloblastome humain), MCF-7 (carcinome de sein humain), WiDr (adénocarcinome de côlon humain) avec une ED_{50} de 4,12 ; 6,23 ; 4,09 et 6,08 $\mu\text{g/mL}$ respectivement³⁴². L'astérolaurine A (**346**) est cytotoxique contre les cellules Hep-2 avec une IC_{50} de $8,9 \mu\text{M}^{340}$.

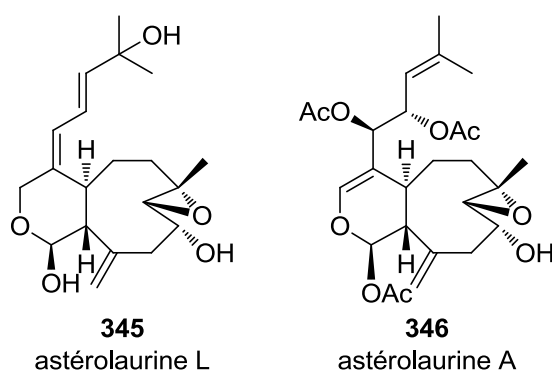


Schéma 205 : Structure des astérolaurine L (**345**) et A (**346**)

- Les acalycixéniolides E, F, G, H, I, J, K, L (**347-354**) ont montré une cytotoxicité contre les cellules leucémiques de la lignée K562 avec des LC_{50} entre 4,7 et 0,2 $\mu\text{g/mL}$ (voir Tableau 15).

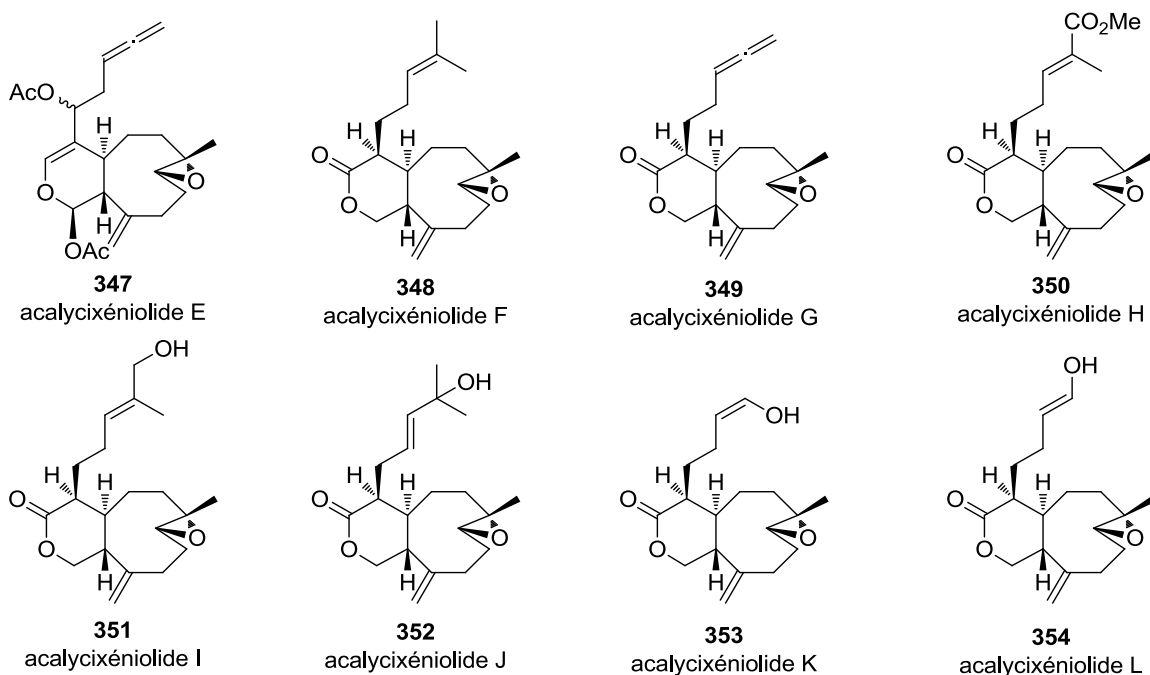


Schéma 206 : Structure des acalycixéniolides E-F (**347-354**)

Le xéniolide A (**355**) présente une bonne cytotoxicité contre les mêmes lignées cellulaires avec une LC_{50} de 40 ng/mL .

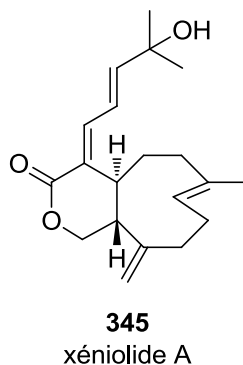


Schéma 207 : Structure du xéniolide A (**355**)

Il est intéressant de noter que la présence du groupement diméthylvinyle terminal (**348**) augmente fortement l'activité par rapport au composé ayant un groupement allène (**347**, **349**) ou vinyle substitué dans cette position(**350**, **353**)^{344,345,363}.

Composés	K562 (LC ₅₀ , µg/mL)
347	4,7
348	0,2
349	1,6
350	3,9
351	1,2
352	2,0
353	1,8
354	1,5
345	0,04

Tableau 15 : Cytotoxicité des acalycixénolides E-F (**347-344**) et du xénolide A (**344**) contre les cellules leucémiques humaines K562

Les xénicanes peuvent représenter un nouveau chimiotype pour le développement de nouveaux agents chimiothérapeutiques. Le mode d'action et les cibles restent pour le moment à élucider, jusqu'à présent l'étude la plus complète est celle de Falkowski et al.³⁶² dans laquelle les auteurs prouvent une induction de l'apoptose par des xénicanes. Nous pouvons noter que les composés cytotoxiques décrits jusqu'à présent appartiennent à la famille des xénolides de type A ou à la famille des xénicanes.

1.1.2.b) Activité antibactérienne

Des activités antibactériennes ont aussi été mises en évidence, ainsi le xénolide I (**356**) possède une activité antibactérienne à 1,25 µg/mL sur *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis* cependant les conditions du test biologique ne sont pas décrites et il n'est pas précisé si la concentration indiquée est une concentration minimale d'inhibition (MIC) ou une concentration pour laquelle la croissance des bactéries est diminuée de moitié (ED₅₀)³³³

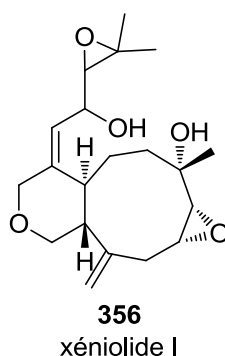


Schéma 208 : Structure du xénolide I (**356**)

La désoxyhavannahine (**357**) montre une concentration minimale d'inhibition de 48 µg/mL sur des souches bactériennes marines de la mer rouge (RSW-2 : *Arthrobacter* sp. KP17 et RSW-3 : *Arthrobacter* sp. Muzt-E04)³⁶⁴

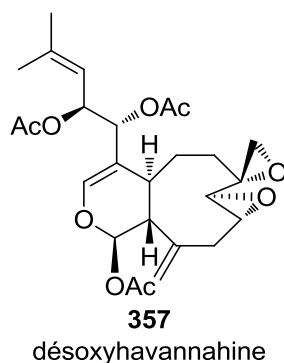


Schéma 209 : Structure de la désoxyhavannahine (**357**)

1.1.2.c) Activité anti-inflammatoire

La production de l'anion superoxyde O_2^- est impliquée dans la réaction inflammatoire et l'étude de l'inhibition de sa production constitue un test rapide pour évaluer le potentiel anti-inflammatoire de composés chimiques. A l'aide de ce test, il a été montré que la tsitsixénicine A (**8**) et la tsitsixénicine B (**358**) à une concentration de 1,25 $\mu\text{g/mL}$ inhibent respectivement de 68 % et de 21 % la production de superoxyde dans des neutrophiles humains³⁴³.

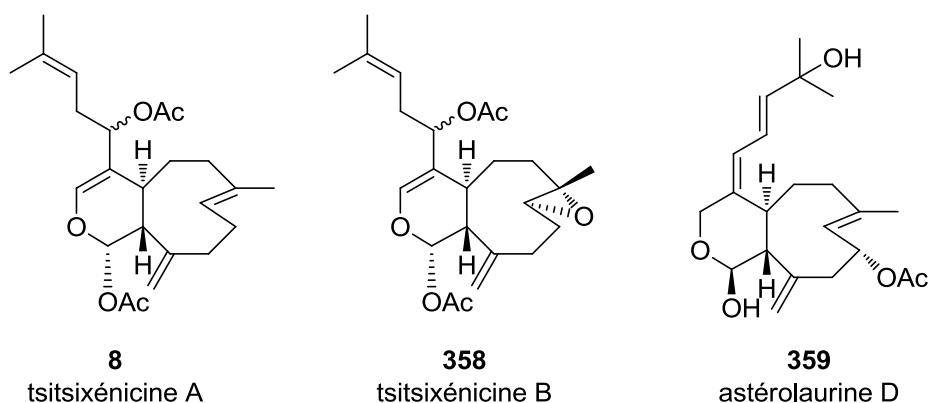
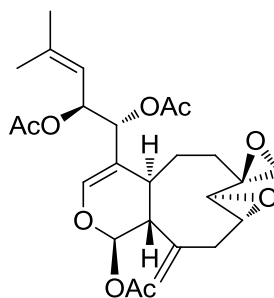


Schéma 210 : Structure des tsitsixénicine A (**8**) et B (**358**) et de l'astérolaurine D (**359**)

L'astérolaurine D (**359**) inhibe la libération d'élastase ($IC_{50} = 18,7 \mu\text{M}$) et la génération de l'anion superoxyde ($IC_{50} = 23,6 \mu\text{M}$) sur les neutrophiles humains. De plus ce composé n'est pas cytotoxique sur les cellules de carcinome de foie humain HepG-2³⁴⁰.

1.1.2.d) Activité anti-biofilm

Le composé **360** inhibe la croissance de l'algue *Ceramium codii*, un organisme connu pour la formation de biofilms. L'inhibition est de 96 % à une concentration de 50 ppm dans le milieu de culture et de 79 % pour une concentration de 25 ppm³²⁷.



360

Schéma 211 : Structure du composé 360

1.1.2.e) Toxicité

Des tests de toxicité ont aussi été effectués sur des œufs d'acidies. Il a été montré que les acalycigorgines B (361), D (362) et E (363) inhibent la division cellulaire d'œufs fertilisés d'ascidies (*Styela partita*) avec des IC_{50} de 5,0 ; 8,0 et 8,0 $\mu\text{g/mL}$ respectivement³⁴⁶.

Les acalycigorgines C (364) et E (363) montrent une toxicité contre les artémies, avec des IC_{50} respectives de 7,6 et 1,5 $\mu\text{g/mL}$.

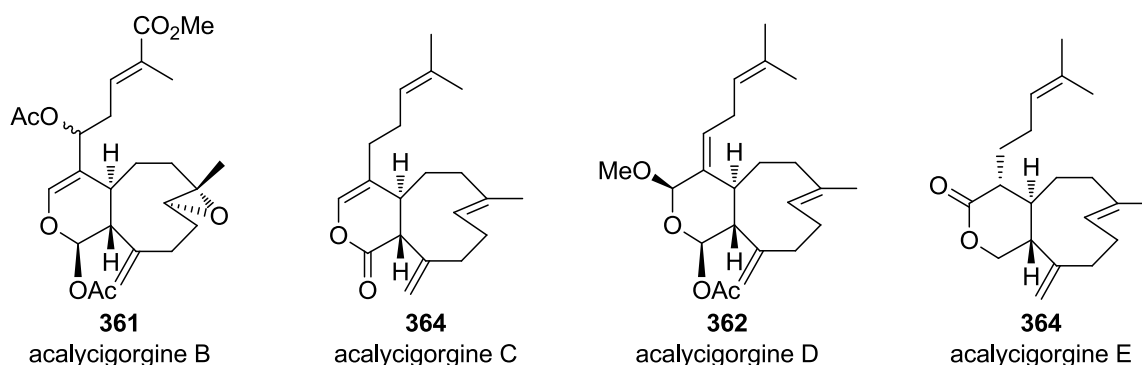


Schéma 212 : Structure des acalycigorgines B-E (361-364)

Ces différents tests biologiques montrent que les xénicanes sont des composés d'intérêts biologiques, notamment dans le domaine de la recherche de nouveaux anticancéreux ou antibiotiques. Les études menées jusqu'à présent sont très partielles, aucune cible n'a été identifiée et aucune rationalisation des relations structure-activité n'est actuellement possible. Comme ces composés ont été isolés en très faibles quantités, il apparaît important et nécessaire de mettre au point des méthodes de synthèses qui puissent permettre l'accès aux xénicanes naturels et aux dérivés pharmacomodulés.

1.1.3 Synthèse de xénicanes et de trans-cyclononène dans la littérature

Jusqu'à présent seules 4 synthèses totales de xénicanes sont décrites. Trois d'entre elles concernent les xéniolides (coraxéniolide A (366)³⁶⁵⁻³⁶⁷, blumiolide C (342)³⁶⁸ et la 4-hydroxydictyolactone (367)³⁶⁹) et une la synthèse d'un xéniaphyllane (l'anthéliolide A (368))³⁷⁰.

Récemment une approche vers la synthèse du (-)-xéniolide F³⁷¹ et une approche de la synthèse de xéniolides³⁷² ont été publiées. Dans cette partie, nous décrirons les synthèses les plus importantes. Nous verrons aussi l'approche par Paquette *et al.*³⁷³ de la construction du *trans*-cyclononène de la pestalotiopsin A (**369**) un caryophyllénoïde extrait d'un champignon endophytique (*Pestalotiopsis* sp.) de *Rhizophora mucronata*³⁷⁴.

1.1.3.a) Synthèse de la dicétone d'Hajos-Parrish par fragmentation de Grob

La première synthèse totale d'un xénicane fut celle du coraxéniolide A (**366**) réalisée par Leumann *et al.* en 2000³⁶⁷. L'étape clé de cette synthèse est la fragmentation de Grob du composé **370** pour former le *trans*-cyclononène du composé **371**. Ainsi le coraxéniolide A (**366**) est obtenu en 22 étapes à partir de la dicétone de Hajos-Parrish³⁷⁵ (**372**) avec un rendement global de 1,5 %.

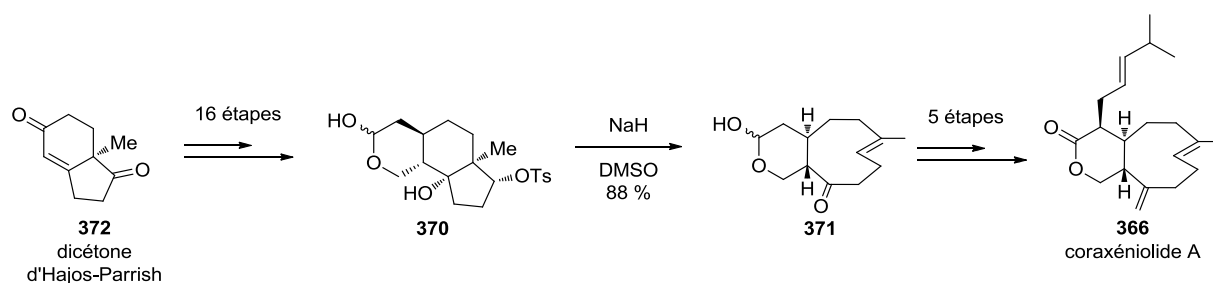


Schéma 213 : Synthèse du coraxéniolide A (**366**) à partir de la dicétone d'Hajos-Parrish (**371**) selon Leumann *et al.*

Cette stratégie s'inspire de la synthèse racémique du caryophyllène (**337**) par Corey *et al.* en 1964³⁷⁶ qui fut la première méthode de synthèse de *trans*-cyclononène décrite. L'action d'une base forte sur l'hydroxyle du composé **373**, conduit à la fragmentation du bicyclic C6-C5 et à la formation de la cétone **374**. La méthylénation permet alors l'obtention du caryophyllène racémique (**336**).

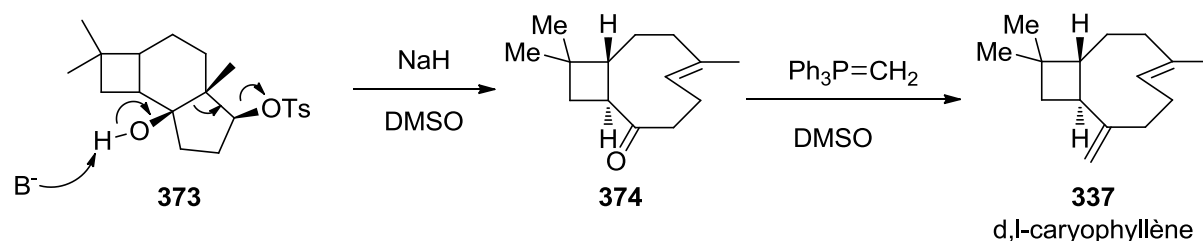
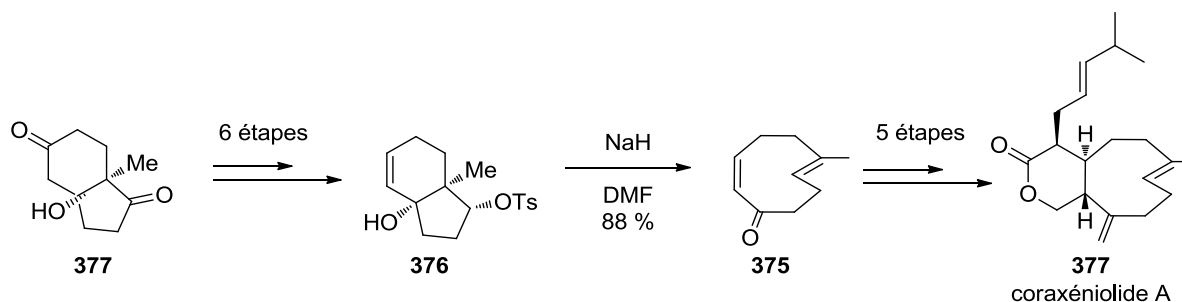


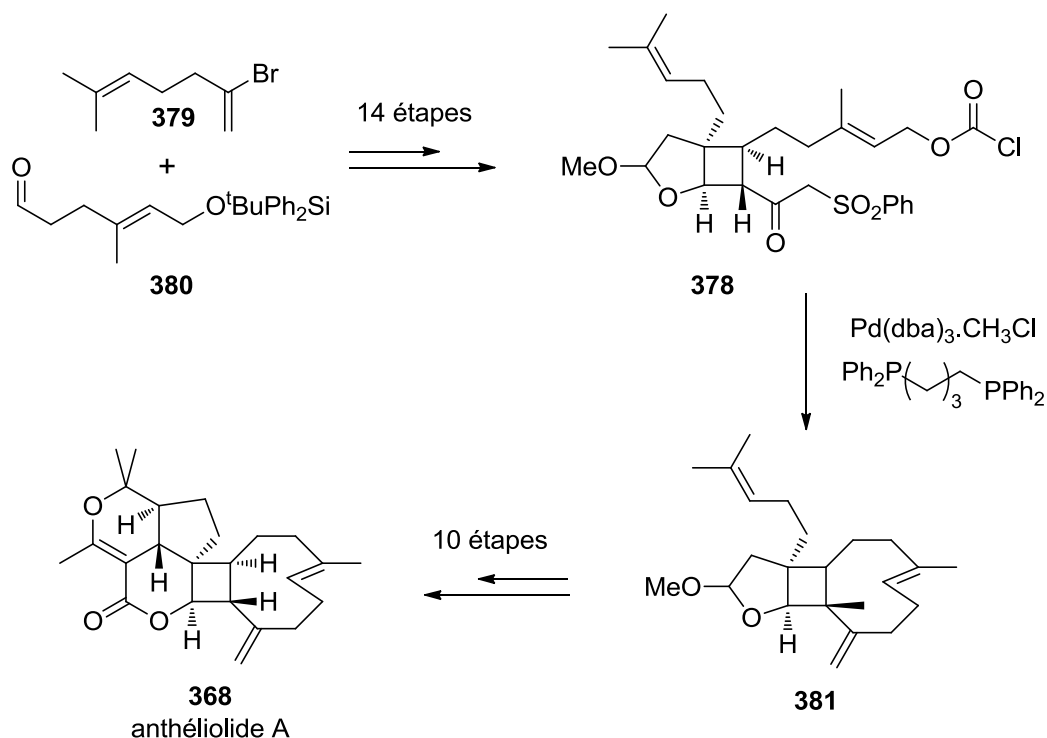
Schéma 214 : Synthèse du caryophyllène (**337**) selon Corey *et al.*

En 2008, Corey *et al.*³⁶⁶ utilisent cette stratégie pour former la cétone **375** à partir du diol **376** obtenu en 6 étapes à partir de la dicétone **377**. La cyclononadiénone **375** est ensuite convertie en coraxéniolide A (**366**) en 5 étapes. Le rendement global de cette séquence réactionnelle en 12 étapes est de 3,1 %.

Schéma 215 : Synthèse du coraxénolide A (366) à partir de la dicétone 377 selon Corey *et al.*

1.1.3.b) Synthèse par couplage croisé pallado-catalysé

Pour la synthèse de l'anthéliolide A (368), l'équipe de Corey a mis au point une nouvelle méthode pour la fermeture du *trans*-cyclononène. Le composé 378 est obtenu en 14 étapes à partir de 379 et 380. Le couplage entre le méthoxycarbonate et le sulfonyle du composé 378 est catalysé par le palladium pour donner le composé 381 avec un rendement de 75 %. Cette méthode permet l'obtention du cycle avec un bon rendement à partir d'un substrat très fonctionnalisé.

Schéma 216 : Synthèse de l'anthéliolide A (368) selon Corey *et al.*

L'utilisation d'un autre couplage au palladium de type Suzuki a permis à Williams *et al.*³⁶⁹ de fermer le cycle de la 4-hydroxydictyolactone (367) avec un bon rendement de 66 %. La séquence débute par l'hydroboration de la double liaison monosubstituée du composé 381, après 12 heures de réaction l'ajout de palladium IV permet la cyclisation en une nuit. Les auteurs notent qu'il est important de travailler à faible concentration ([381] = 0,005 M) pour obtenir les meilleurs résultats. Le composé 382 est ensuite converti en 4-hydroxydictyolactone (367) en trois étapes. Cette séquence permet

l'accès à la 4-hydroxydictyolactone (**367**) en 29 étapes avec un rendement de 6,1 % à partir du composé **383**.

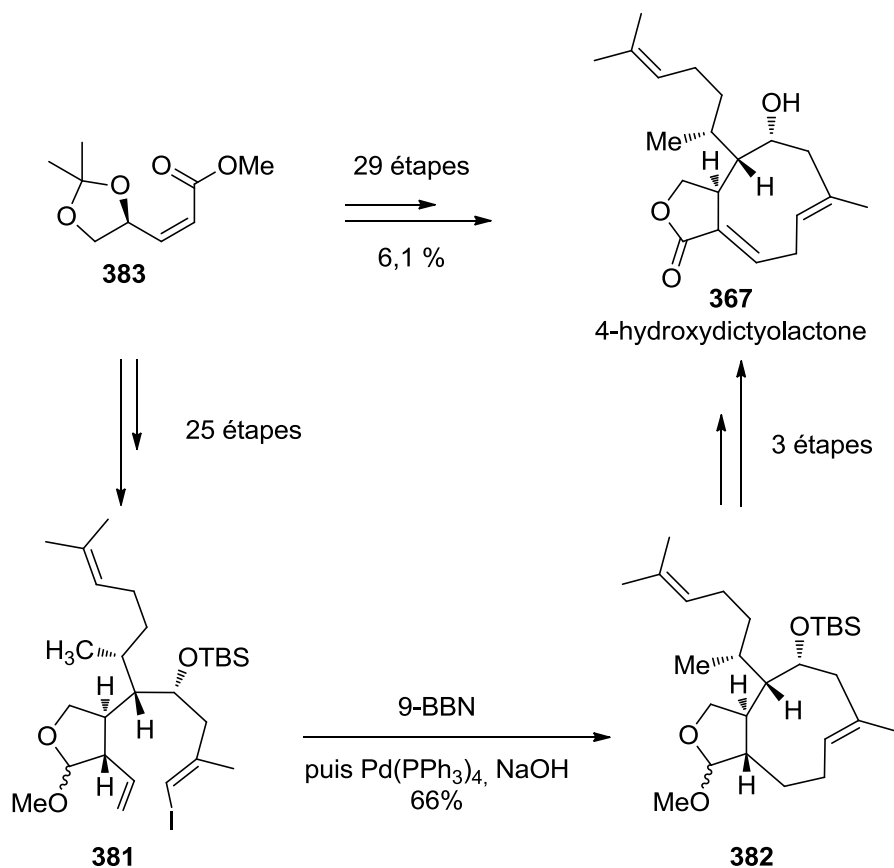


Schéma 217 : Synthèse de la 4-hydroxydictyolactone (**367**) selon Williams *et al.*

1.1.3.c) Synthèse par métathèse cyclisante

La dernière méthode utilisée pour la formation du cyclononène est la métathèse cyclisante. Cette stratégie a notamment été adoptée par Paquette *et al.* pour la synthèse de la pestalotiopsin A (**369**). Cependant la construction du *trans*-cyclononène n'a pas pu être effectuée par métathèse cyclisante³⁷³.

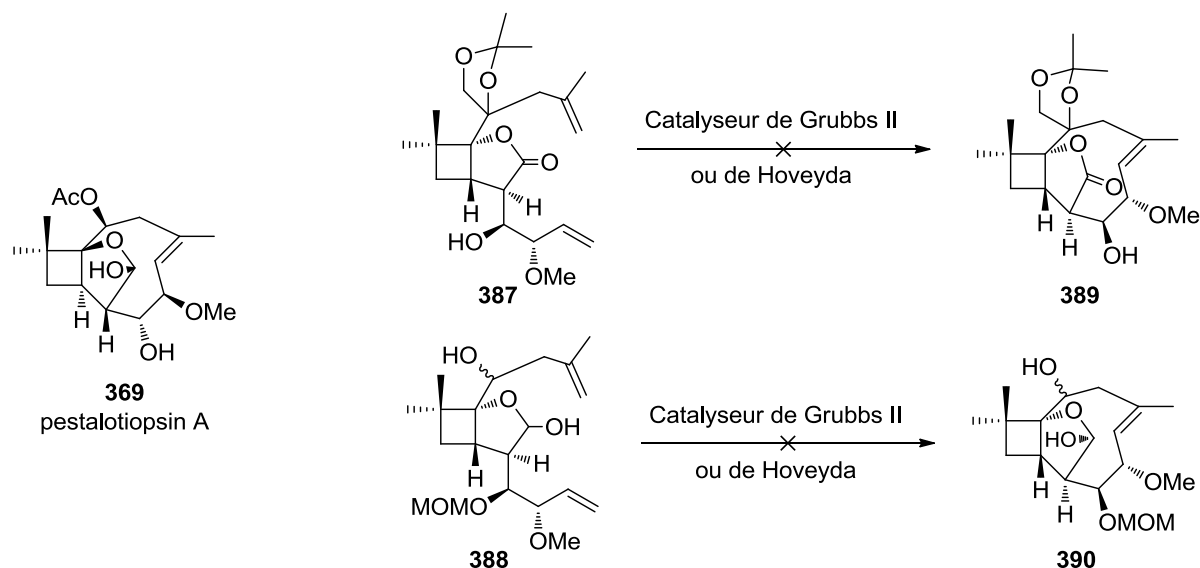


Schéma 218 : Synthèse de la pestalotiopsin A (**369**) selon Paquette *et al.*

Les auteurs ont essayé plusieurs catalyseurs de type Grubbs II (**384**)³⁷⁷, Hoveyda (**385**)³⁷⁸ et Zhan (**386**), sur le composé **387** et le composé **388** et ils n'ont observé aucune fermeture de cycle (**389** et **390**) ni de dimérisation.

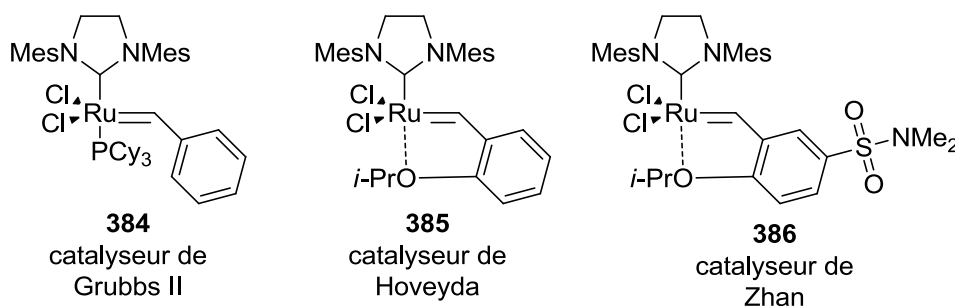


Schéma 219 : Catalyseur de métathèse de type Grubbs II

Bien que les auteurs n'expliquent pas ce manque de réactivité, nous pouvons penser que la présence du cycle à 5 chaînons (lactone ou lactol) à l'intérieur du cyclononène peut défavoriser la cyclisation par gêne stérique.

En revanche, Altmann *et al.* ont pu obtenir la formation du *cis*-cyclononène du blumiolide C (**342**) par métathèse cyclisante du composé **391** en utilisant le catalyseur d'Hoveyda (**385**). L'optimisation de la réaction montre que le meilleur rendement est obtenu lorsque la réaction a lieu dans le toluène à 90°C pendant 3 jours. A ce jour cette synthèse est le seul exemple de la formation d'un xénicane contenant un *cis*-cyclononène.

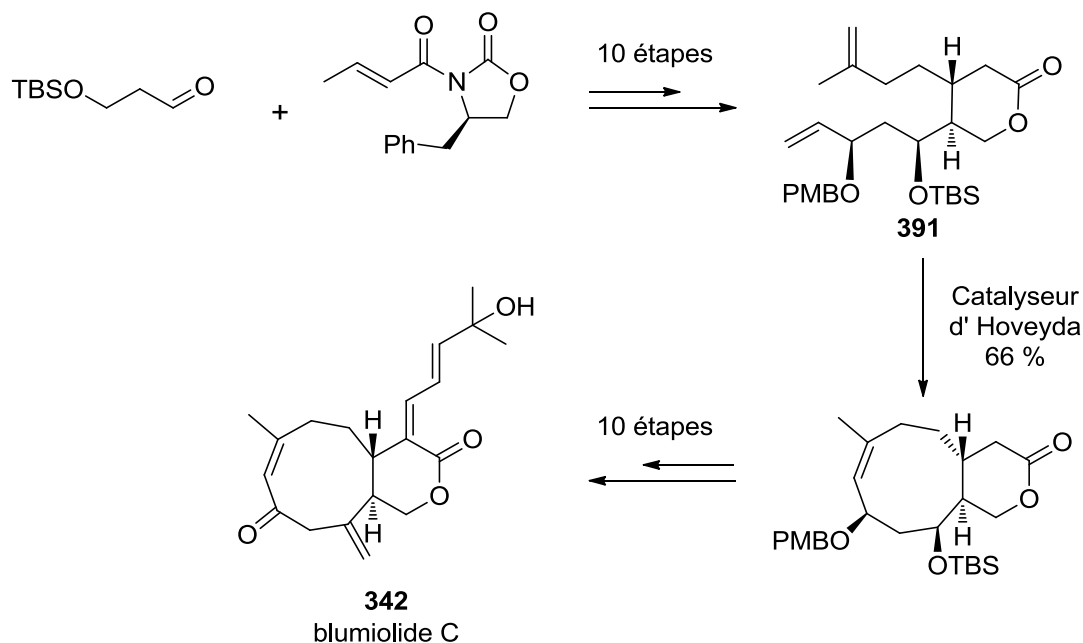


Schéma 220 : Synthèse du blumiolide C (**342**) selon Altmann *et al.*

Nous avons montré qu'il n'existe que trois types de méthodes de formation de cyclononène. Ainsi il existe un vrai besoin de nouvelles approches, nous allons décrire quelles stratégies nous pouvons adopter pour synthétiser des xénicanes à partir de sécoiridoïdes.

2. Rétrosynthèses : des iridoïdes aux xénicanes de types xénicines : quelle stratégie à retenir ?

Parmi les différents types de xénicanes, nous avons choisi de synthétiser les composés de types xénicine dont aucune synthèse n'a encore été décrite. Plus particulièrement nous nous sommes intéressés à la synthèse de la tsitsixénicine A (**8**) qui présente des activités anti-inflammatoires et qui peut constituer un composé modèle pour la mise au point d'une synthèse de xénicines. Cette molécule possède le même cycle dihydropyrane que les sécoiridoïdes, qui est fusionné en position 5 et 9 par un carbocycle à 9 carbones en *trans* par rapport au pyrane. De plus l'hydrogène en position 1 est en α du plan comme dans les sécoiridoïdes. Les sécoiridoïdes représentent donc des synthons chiraux de choix pour l'accès à la tsitsixénicine A (**8**). De plus la synthèse énantiosélective de ce composé permettra de déterminer la configuration absolue en C12 qui reste jusqu'à présent inconnue.

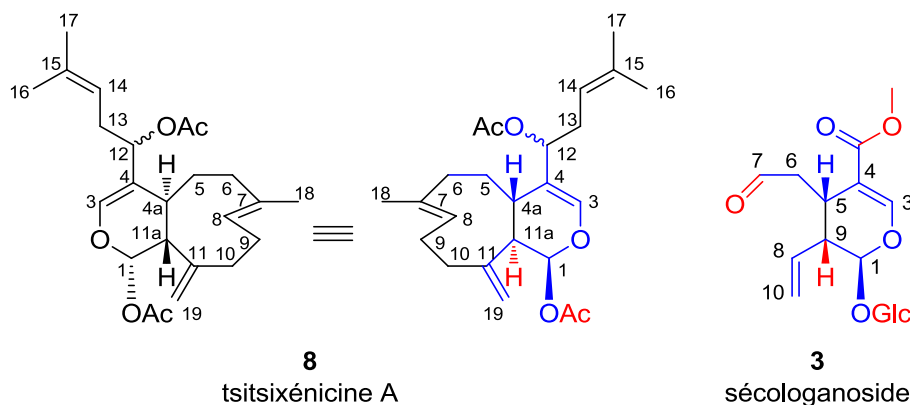


Schéma 221 : Structure de la tsitsixénicine A (**8**) et analogies avec la structure du sécologanoside

2.1.1 Rétrosynthèse générale et choix du sweroside comme produit de départ.

Concernant la numérotation nous utiliserons la numérotation des xénicanes lorsque le composé contient le cyclononène, lorsque les composés décrits sont ouverts et sous forme de sécoiridoïdes nous utiliserons la numérotation usuelle des iridoïdes.

Quatre déconnexions majeures sont envisagées pour l'accès à la tsitsixénicine A (**8**) à partir d'un synthon de type sécoiridoïde :

- La première déconnexion que nous envisageons est la rupture de la liaison C12-C13 pour former le synthon **392**. L'introduction de la chaîne latérale en fin de synthèse permet l'accès à de nombreuses variations pour l'obtention de nombreux analogues.
- La déconnexion suivante est la coupure de la double liaison C11-C19, où une méthylation de la cétone correspondante **393** peut être envisagée.
- La déprotection du glucose, suivie de la déglucosylation et de l'acétylation, pour conduire au synthon **394**.

➤ Les déconnexions clés des liaisons C6-C7 et C10-C9, nous amènent au synthon clé **395**.

Ce synthon possède une structure de type sécoiridoïde et l'addition du composé **396** sur les carbones C7 et C9 permettrait l'obtention du carbocycle à 9 carbones. Pour effectuer cette addition nucléophile, nous envisageons l'introduction d'un groupement partant (GP) en C7 et d'un centre électrophile en C8. Afin d'obtenir la jonction de cycle *trans*, il sera nécessaire d'épimériser la position 9 (**397**). La fonction aldéhyde est la fonction qui convient le mieux pour obtenir un centre électrophile épimérisable en α .

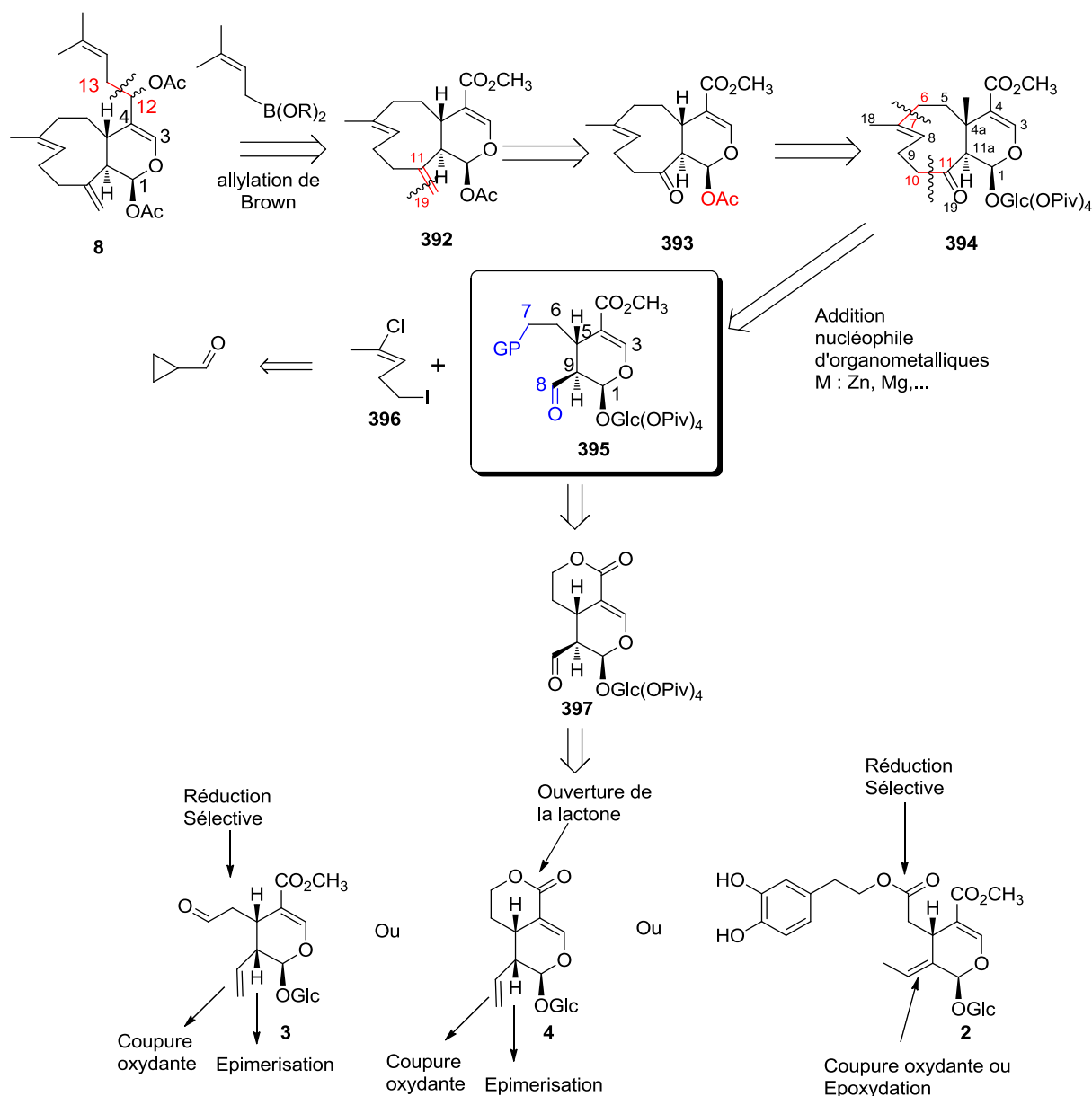


Schéma 222 : Rétrosynthèse générale de la tsitsixénicine A (**8**)

Pour obtenir le synthon **395**, nous avons le choix entre trois matières premières que sont le sécologanoside (**3**), le sweroside (**4**) et l'oleuropéine (**2**). L'oleuropéine (**2**) pourrait constituer une matière première de choix, car elle extraite en très grande quantité d'*Olea europaea*, de plus nous

avons développé une méthode de réduction sélective de l'oleuropéine permettant l'accès à un hydroxyle en position 7 qui peut être converti en groupement partant (tosylate, triflate, halogène). Cependant nous avons vu que la fonctionnalisation sélective de la double liaison trisubstituée exocyclique est difficile à mettre en œuvre. Ces difficultés synthétiques nous amènent à exclure l'oleuropéine (**2**) comme produit de départ pour l'obtention de xénicanes.

Le sécologanoside (**3**) pourrait constituer le produit de départ idéal car le carbone C7 possède déjà un caractère électrophile. Cependant nous avons vu qu'il n'était pas possible de fonctionnaliser la double liaison C8-C10 sélectivement.

En revanche la double liaison C8-C10 du sweroside (**4**) peut être fonctionnalisée grâce à la présence de lactone qui protège la liaison C3-C4. La méthode d'ouverture de lactone que nous avons développée permet l'accès à la fonction hydroxyle en C7 convertible en groupement partant par tosylation. Le groupement partant peut aussi être un iode que l'on peut obtenir *via* une iodation de l'hydroxyle ou par ouverture de la lactone par TMSI.

Ainsi nous avons choisi d'utiliser le sweroside (**4**) comme produit de départ pour l'obtention du synthon clé **395**. Nous allons maintenant détailler les différents plans de synthèse de la tsitsixénicine A (**8**) à partir du sweroside (**4**).

2.1.2 Stratégie de cyclisation du méthylcyclononène

2.1.2.a) Réflexion sur l'ordre d'addition des deux additions nucléophiles

Il est à noter que le synthon clé **395** est un composé hypothétique qui possède les deux centres électrophiles en C8 et en C7 pour effectuer la cyclisation. Nous envisageons d'effectuer les deux additions électrophiles l'une après l'autre. L'utilisation du sweroside (**4**) comme produit de départ impose la contrainte de commencer la synthèse par l'addition du composé **396** sur la position C8 du synthon **395**. En effet la présence de la lactone est nécessaire pour réaliser les réactions d'oxydation régiosélectives de la double liaison C8-C10. La première addition aura donc lieu sur le carbone C8, l'ouverture de la lactone permettra l'accès au carbone électrophile en C7, ainsi l'aldéhyde **397** constitue le premier synthon clé pour la synthèse de xénicanes.

2.1.2.b) Stratégie d'addition nucléophile

La première addition peut être effectuée par addition nucléophile d'un organométallique formé à partir du iodure **396** sur la position C8 de l'aldéhyde **397**. Nous utiliserons des métaux peu toxiques comme le zinc, le cuivre ou le magnésium pour effectuer cette addition. Une fois l'addition effectuée, l'alcool peut être protégé par TBSOTf. Nous envisageons à cette étape l'ouverture de la lactone de **398** par le TMSNa et la méthyoxylation puis la conversion de l'hydroxyle en groupe partant *via* une tosylation pour former **399** (séquence A). Une autre approche est envisagée, elle consiste à ouvrir la lactone par le TMSI, dans les conditions décrites par McLean, suivie de la méthyoxylation de l'acide pour former

l'iodure **400** (séquence B). La fermeture de cycle peut alors être effectuée par formation du vinyle magnésien, permettant la cyclisation intramoléculaire pour donner le composé **401** après déprotection de l'éther silylé par un fluorure.

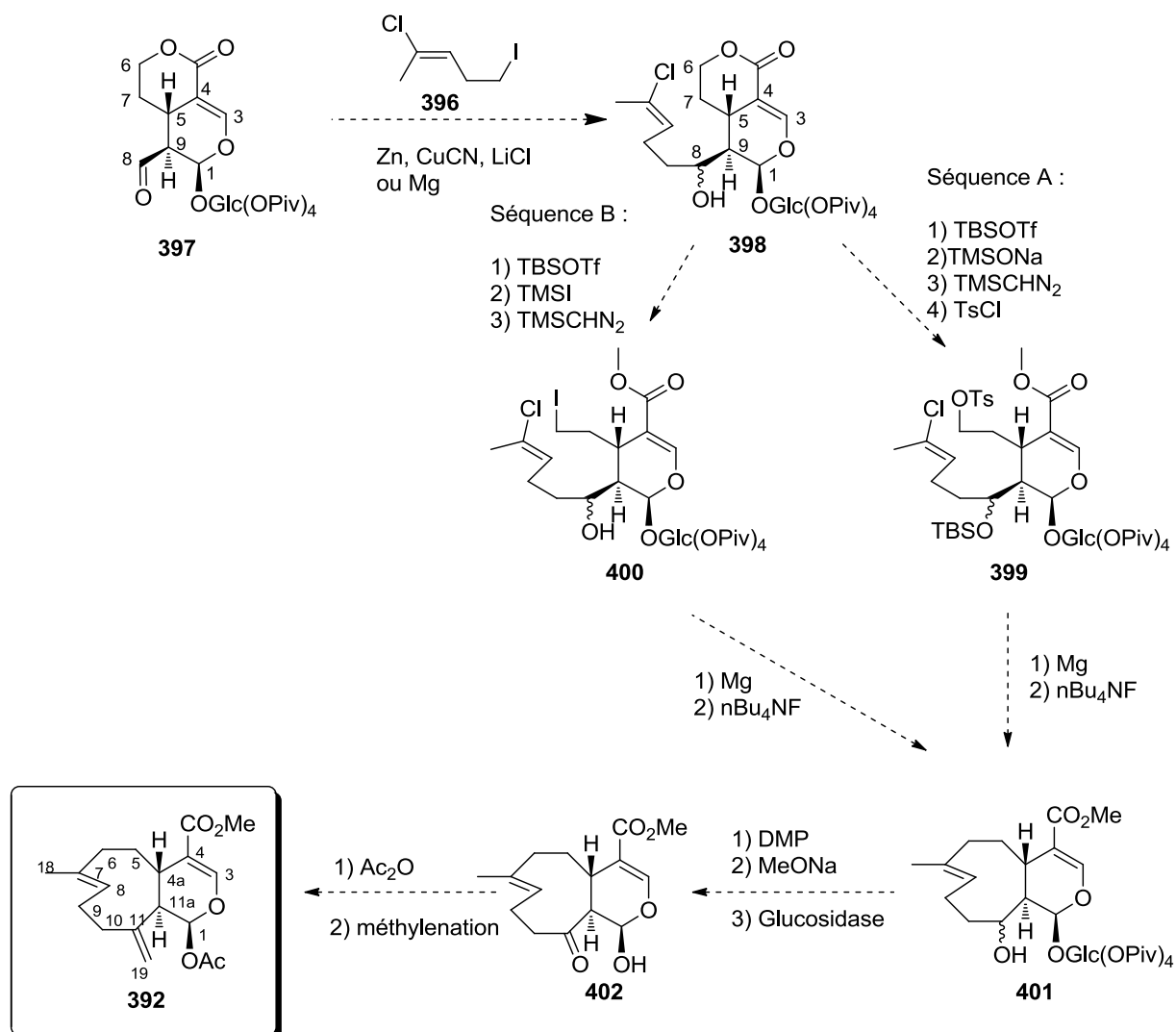


Schéma 223 : Voie de synthèse du composé **392** selon la stratégie d'addition nucléophile

La suite de la synthèse peut se poursuivre par l'oxydation de l'hydroxyle en C8. La déprotection des alcools du glucose par le méthanolate de sodium pourra permettre l'hydrolyse de la liaison osidique par la β -glucosidase (**402**). L'hydroxyle résultant en C1 sera acétylé par l'anhydride acétique. La méthylation de la cétone par la méthode de Tebbe ou de Lebel^{379,380} par exemple donnera accès au composé **392**, dernier intermédiaire clé avant l'addition de différentes chaînes latérales.

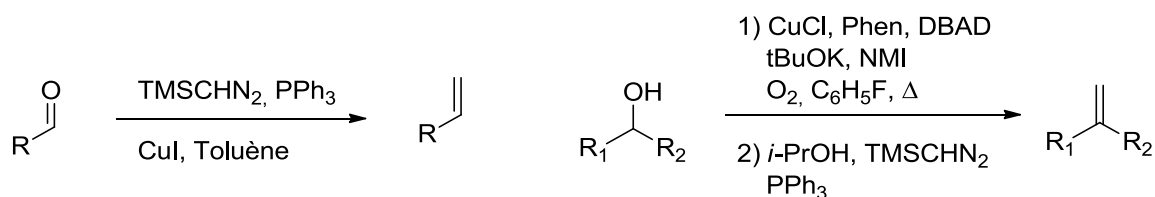


Schéma 224 : Méthode de méthylation d'aldéhyde et d'alcools secondaires selon Lebel *et al.*

2.1.2.c) Stratégie d'Umpolung

En parallèle de la stratégie d'addition nucléophile, nous envisageons une stratégie Umpolung, qui inverse la réactivité de l'aldéhyde en C8 de **397**. La conversion de l'aldéhyde en dithiane **403**, suivie par la déprotonation du C8 par une base lithiée permet la formation d'un anion qui peut réagir sur l'iodure **396** pour fournir le composé **404**. Cette stratégie permettant l'obtention de l'aldéhyde sous sa forme protégée a pour avantage d'autoriser des conditions réactionnelles plus dures et de générer directement la cétone en C8 par déprotection du dithiane. Les dithianes de types 1,2 et 1,3 peuvent être utilisés, conduisant aux cycles soufrés à 5 et 6 chaînons.

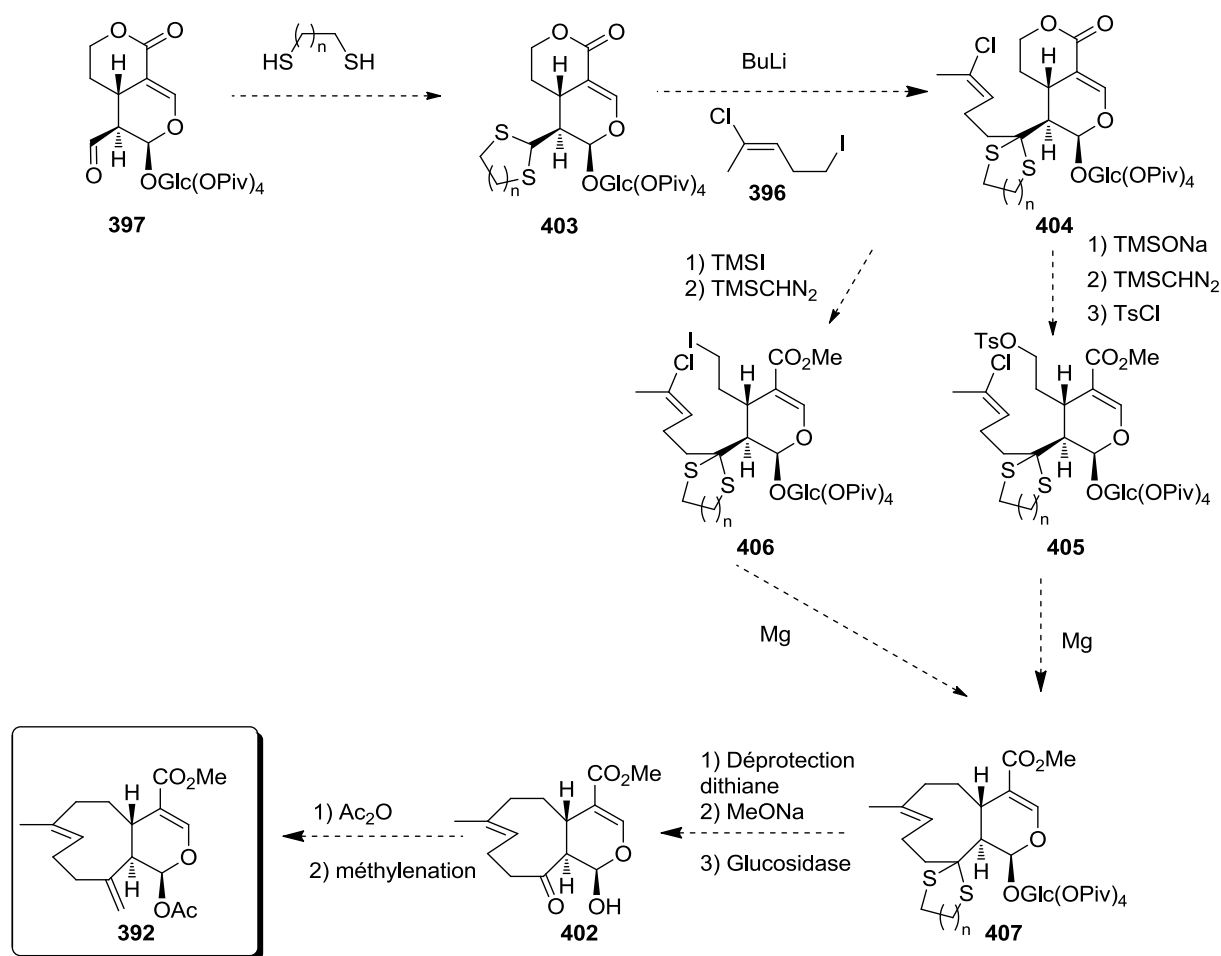


Schéma 225 : Voie de synthèse du composé **392** selon la stratégie Umpolung

La déprotonation du dithiane, permettrait d'effectuer la première addition de **396**. L'iodure d'alkyle étant plus réactif que le chlorure de vinyle, l'addition devrait être régiosélective. L'ouverture de la lactone par le TMSNa et l'estérification de l'acide est alors envisageable. A ce stade, la transformation de l'hydroxyle en groupe partant (TsCl, Tf₂O) donnerait le composé **405**. Le composé **406** pourrait être, quant à lui, directement obtenu par ouverture de la lactone par TMSI suivie de la méthyoxylation de l'acide. La cyclisation intramoléculaire pourrait avoir lieu par formation *in-situ* du chlorure de vinylmagnésium, pour donner le composé **407**. La déprotection du dithiane est réalisable dans différentes conditions, par exemple par l'utilisation de l'IBX³⁸¹, de H₂O₂³⁸², de PhOPCl₂-NaI³⁸³, d'Amberlyst-15 et de paraformaldéhyde³⁸⁴ ou encore de FeNO₃ en présence de silice³⁸⁵. La déprotection puis l'hydrolyse enzymatique conduiraient au composé **402**. Le composé **392** serait alors obtenu après acétylation de l'hydroxyle et méthylation de la cétone.

2.1.2.d) Stratégie métathèse

Si la stratégie d'addition intramoléculaire sur le C7 s'avère difficile, il est possible d'envisager une déconnexion au niveau de la double liaison du cyclononène (**408**). Cette déconnexion conduit au composé **408** qui peut être issu de l'intermédiaire commun **394**.

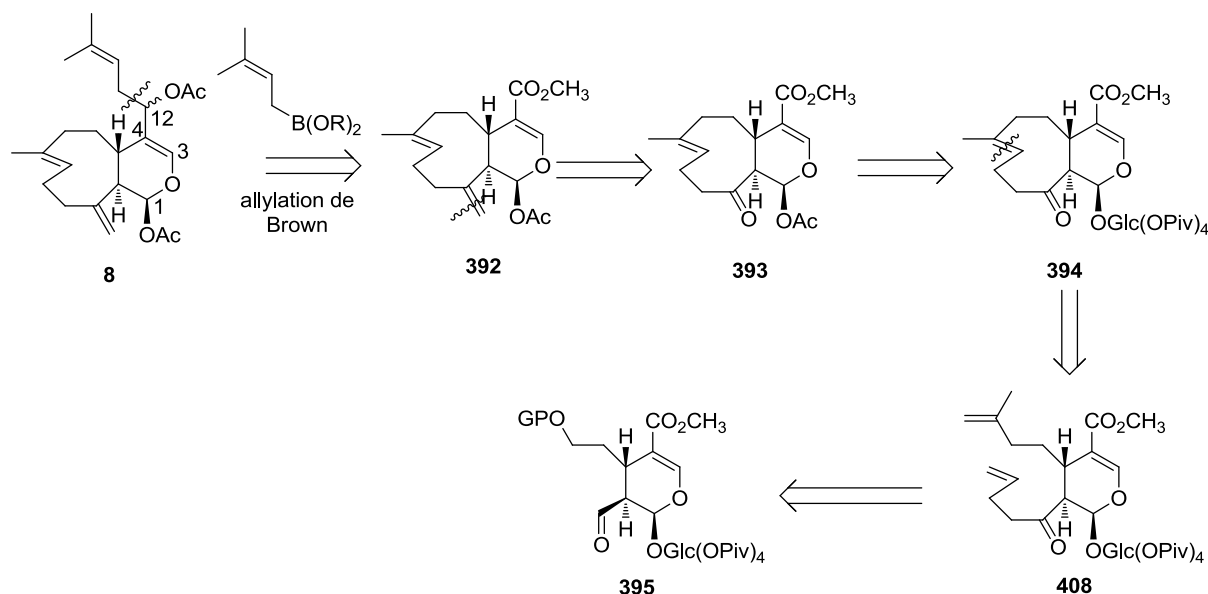


Schéma 226 : Rétrosynthèse de la tsitsixénicine A (**8**) selon la stratégie métathèse

A partir du synthon clé **397**, l'addition nucléophile du bromure de 4-buténomagnésium commercial **409** conduirait au composé **410**. La séquence A permettrait l'obtention du composé **411** et la séquence B le composé **412**. L'addition du bromure d'isopropylmagnésium commercial (**413**) sur le C7 de **411** ou **412** conduirait au composé **414**.

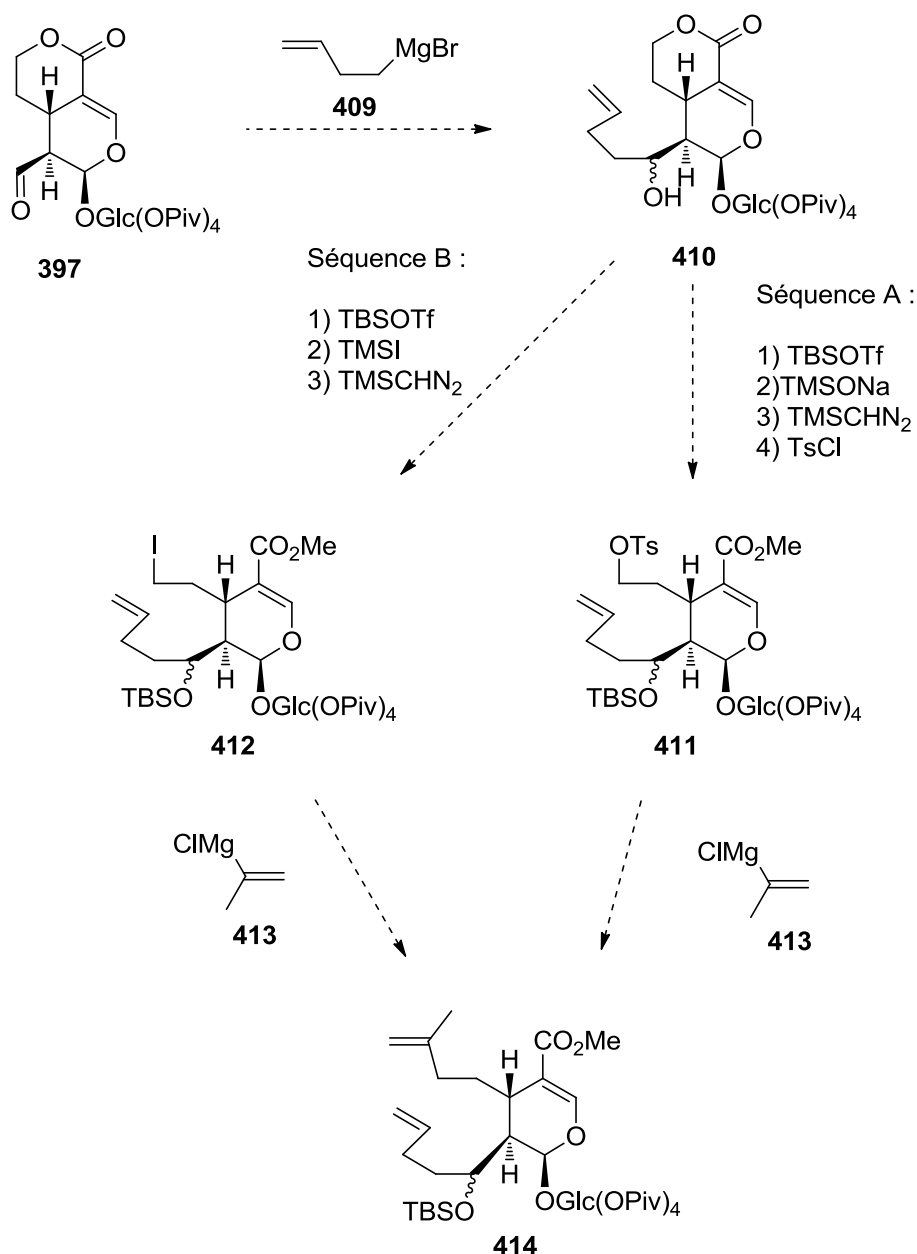


Schéma 227 : Voie de synthèse du composé **392** selon la stratégie métathèse

L'étape clé permettant la cyclisation peut être réalisée par métathèse des oléfines. Bien que la réaction de métathèse ait été largement utilisée pour la construction de carbocycles à 8 chaînons^{386,387}, peu d'exemples sont disponibles pour les cycles à neuf chaînons hormis les exemples du blumiolide C (**342**) et de la pestalotipsin A (**369**) que nous avons vus précédemment.

Ainsi aucun exemple de formation de *trans*-cyclononène par métathèse n'est à ce jour décrit dans la littérature. Cette stratégie peut donc sembler risquée et sera effectuée en dernier recours, cependant si la métathèse cyclisante *trans* est observée, cela constituerait le premier exemple dans la littérature. De plus cela permettrait d'accéder au composé **415** qui peut conduire au composé **392** après déprotection du sucre, déglucosylation, acétylation de l'hydroxyle, déprotection de l'éther silylé, oxydation de l'hydroxyle résultant et méthylénation de la cétone.

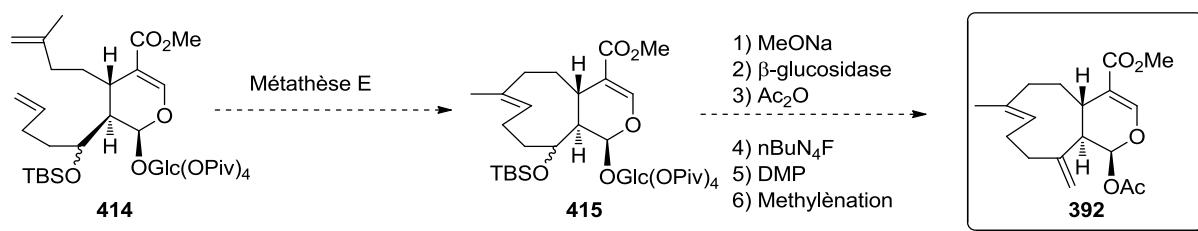


Schéma 228 : Voie de synthèse du composé **392** dans le cas d'une *trans*-métathèse

Enfin si la cyclisation observée est *cis*, le composé **416** pourrait être isolé. Ce composé représente une autre classe de xénicanes de type blumiolide C (**342**) qui peut être intéressant pour l'étude de l'influence de la configuration du carbocycle sur l'activité biologique de ces composés. La même séquence réactionnelle permettrait ensuite la synthèse du composé **417**.

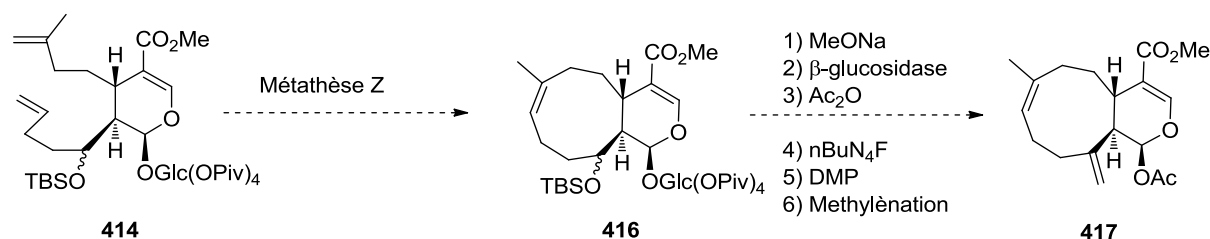


Schéma 229 : Voie de synthèse du composé **417** dans le cas d'une *cis*-métathèse

La stratégie métathèse des oléfines utilise des réactifs commerciaux pour obtenir le synthon clé **414**, cependant elle est plus risquée que les stratégies précédentes car il est probable que la formation du *cis*-cyclononène soit favorisée. Même si les composés *cis* peuvent être valorisés, nous envisagerons donc cette stratégie après avoir testé les deux autres.

3. Vers la synthèse de la tsitsixénicine A

3.1 Stratégie d'addition directe

Après avoir étudié les réactions de coupure oxydante de la double liaison C8-C10, nous établirons les conditions d'épimérisation de l'aldéhyde **418**. Nous décrirons ensuite les différents essais d'addition nucléophiles effectués avec différents organométalliques.

3.1.1 Synthèse de l'aldéhyde clé

Nos travaux sur les réactivités des doubles liaisons ont montré que la double liaison C8-C10 du perpivaloylsveroside (**201**) peut être régiosélectivement dihydroxylées. Il est donc envisageable d'accéder à l'aldéhyde **418** par une coupure oxydante.

3.1.1.a) Par coupure oxydante

Dans un premier temps nous avons effectué la synthèse de l'aldéhyde **418** par une coupure oxydante au NaIO_4 à partir du mélange de diols **287**³⁸⁸. Cette réaction conduit à la formation de l'aldéhyde **418**

avec un rendement de 52 % en 60 heures à température ambiante et avec un rendement global de 38 % à partir du perpivaloylsweroside (**201**).

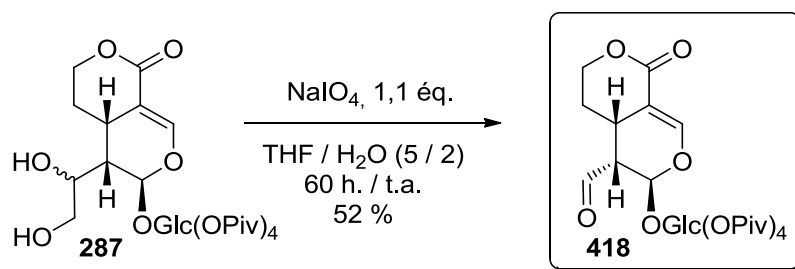


Schéma 230 : Synthèse de **418** à partir du mélange de diols **287**

Ce même aldéhyde peut être obtenu en une étape à partir du perpivaloylsweroside (**201**) en présence d'une quantité catalytique de OsO_4 et de 2 équivalents de NaIO_4 ³⁸⁹. Cette réaction permet l'obtention de l'aldéhyde **418** avec un rendement de 57 % après 24 heures de réaction à température ambiante.

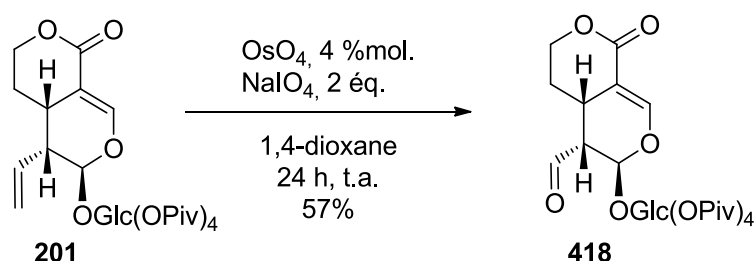


Schéma 231 : Synthèse directe du composé **418** à partir du perpivaloylsweroside (**201**)

Afin de limiter l'utilisation de métaux toxiques comme l'osmium, nous avons envisagé également d'effectuer la coupure oxydante par ozonolyse.

3.1.1.b) Par ozonolyse

L'oxydation de la double liaison par l'ozone est très rapide et la réaction nécessite entre 30 sec et 2 min à $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour être complète. Il est nécessaire de contrôler la réaction par CCM afin d'éviter la sur-oxydation de la double liaison C3-C4 et la formation de nombreux sous-produits. L'ozonide formé est ensuite réduit par SMe_2 pendant 12 heures, pour former le composé **418** avec un rendement de 70 %. Cependant les conditions de réaction étant difficilement contrôlables les rendements sont peu reproductibles et varient 40 % à 70 %.

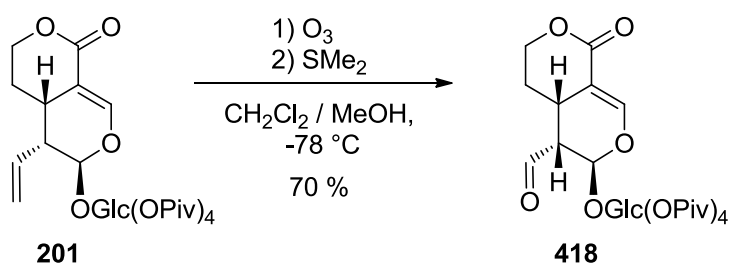


Schéma 232 : Synthèse de **418** par ozonolyse de **201**

Afin de diminuer le temps de work-up, nous avons ensuite utilisé PPh_3 à la place du SMe_2 . La réduction de l'ozonide est alors complète en 1 heure. A notre surprise nous avons constaté une épimérisation de 60 % de l'aldéhyde lorsque la PPh_3 est utilisée en tant que réducteur. Cette épimérisation est très intéressante pour notre stratégie, malheureusement, en laissant la PPh_3 réagir plus longtemps (16h), nous n'avons pas observé d'épimérisation supplémentaire, le ratio entre **418** et **397** étant toujours de 40 / 60.

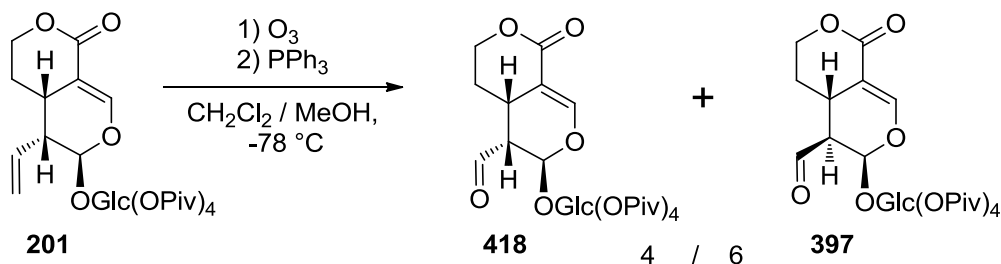


Schéma 233 : Ozonolyse de **201** en condition épimérisante

Les deux épimères sont obtenus en mélange et ne sont pas séparables sur silice. Nous avons donc développé une méthode d'épimérisation complète de l'aldéhyde.

3.1.2 Epimérisation

Différentes bases et solvants ont été testés afin de trouver les conditions permettant d'obtenir une épimérisation complète. Nous verrons d'abord les résultats obtenus en milieu protique puis en milieu aprotique.

3.1.2.a) Elimination en milieu aprotique

Lorsque le composé **418** est mis en réaction avec le DABCO dans le toluène, aucune épimérisation n'est observée. En revanche le composé **419** est isolé avec un rendement de 70%.

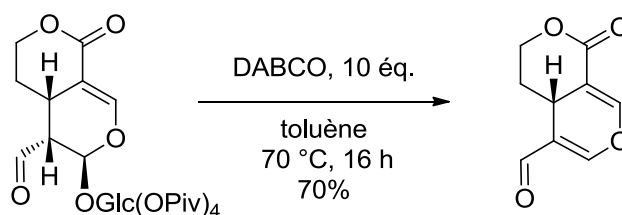


Schéma 234 : Elimination du glucose de **418** par le DABCO en milieu aprotique

Ce composé est issu de l'élimination du glucose après déprotonation en C9. Dans un milieu aprotique l'élimination du sucre est plus rapide que la reprotonation du C9, conduisant à la formation du composé **419**

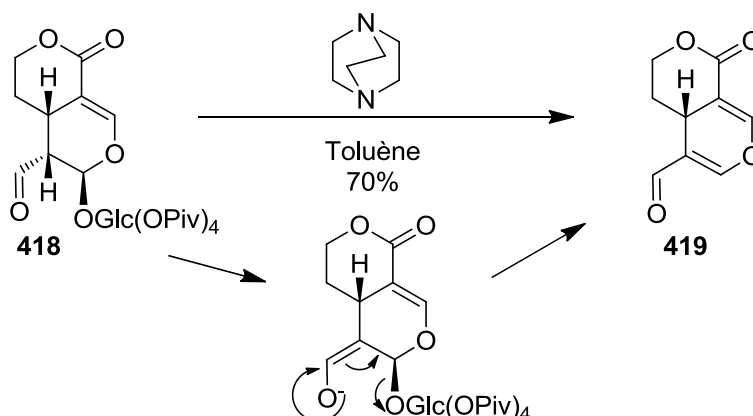


Schéma 235 : Mécanisme d'élimination du glucose en milieu aprotique

Bien que ce composé ne soit pas le produit attendu, il constitue un nouveau synthon chiral intéressant de type tétrahydropyrane.

Les résultats avec d'autres bases dans ces conditions n'ont pas été concluants :

- triéthylamine (Et₃N) : élimination et dégradation du produit de départ.
- pyridine : élimination plus lente qu'avec le DABCO.
- 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-ène (DBN) : dégradation du produit de départ, probablement polymérisation.
- 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ène (DBU) : dégradation du produit de départ, probablement polymérisation.

3.1.2.b) Epimérisation en milieu protique

Afin de limiter la réaction d'élimination du sucre et de favoriser la reprotonation du C9, la réaction a été réalisée en milieu protique, c'est-à-dire dans le THF en présence de 4 équivalents d'eau. La base qui permet d'obtenir les meilleurs résultats est le DABCO. Dans ces conditions nous obtenons une épimérisation totale du composé **418** en 30 minutes avec un rendement de 82 %.

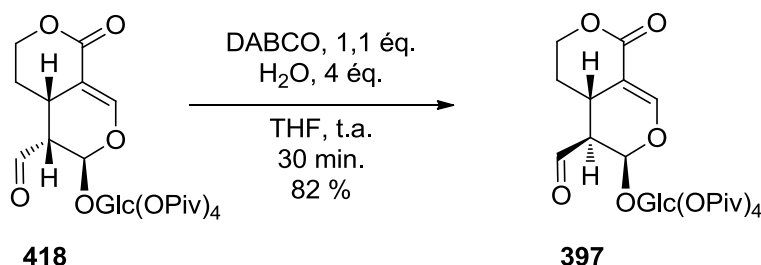


Schéma 236 : Epimérisation de l'aldéhyde **418** par le DABCO en milieu protique

Les mêmes conditions appliquées au mélange d'épimères 60 / 40 obtenu après traitement de la réaction d'ozonolyse avec PPh_3 , conduisent aussi à une épimérisation totale avec le même rendement de 82 %.

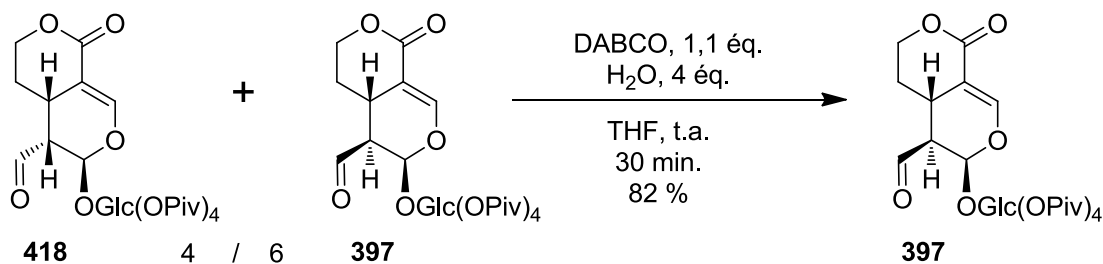


Schéma 237 : Epimérisation du mélange d'aldéhyde **418** et **397** par le DABCO en milieu protique

Grâce aux réactions d'ozonolyse et d'épimérisation, la synthèse du premier synthon clé **397** est effectuée sans utiliser de métaux toxiques et avec l'utilisation de réactifs à faibles coûts. Nous allons maintenant décrire les différents essais d'additions nucléophiles qui ont été réalisés sur les aldéhydes **418** et **397**.

3.1.3 Addition nucléophile

Dans cette partie nous effectuerons d'abord la synthèse du composé **396** puis les différents essais d'addition nucléophile sur l'aldéhyde **418** et **397**.

3.1.3.a) Synthèse du 2-chloro-5-iodo-2-pentène

Le 2-chloro-5-iodo-2-pentène **396** a été synthétisé en deux étapes à partir de la cyclopropylméthylcétone **420**. La première étape consiste en la formation du 2-chloro-5-chloro-2-pentène **421** par action du pentachlorure de phosphore PCl_5 selon la méthode de Newman et Kaugars³⁹⁰. Après deux jours de réaction dans le dichlorométhane à température ambiante, les auteurs

obtiennent un mélange 70/30 d'isomère *E* et *Z* qu'ils ont pu séparer par chromatographie gazeuse préparative.

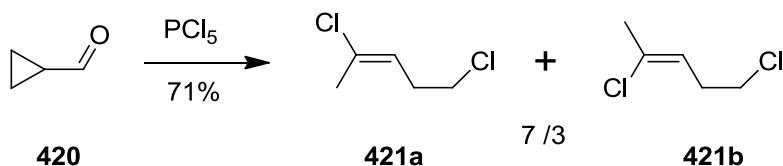


Schéma 238 : Synthèse du composé **421** à partir de la cyclopropylméthylcétone **420**

En reproduisant les conditions décrites, nous avons pu isoler le mélange 7 / 3 des composés **421a** et **421b** avec un rendement de 71 %. Le composé **421** est utilisé en mélange pour la suite de la synthèse. Le 2-chloro-5-iodo-2-pentène **396** est obtenu selon la méthode de Kreiser et Janitschke³⁹¹ modifiée par Coates³⁹². La substitution du chlore primaire s'effectue par l'action de NaI dans l'acétone à reflux pendant 12 heures, après purification par distillation le mélange 7 / 3 de **396a** et **396b** est obtenu avec un rendement de 72 %.

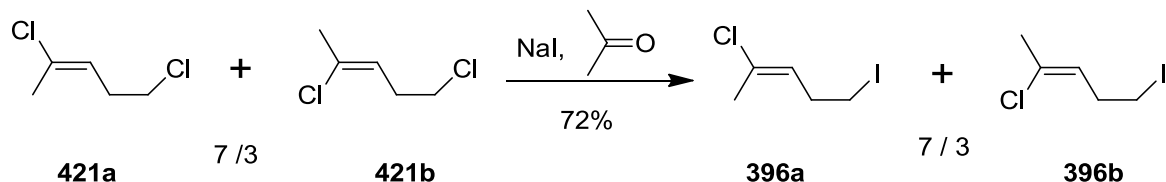


Schéma 239 : Synthèse du composé **396** à partir de **421**

Le composé qui nous intéresse étant le composé majoritaire, nous n'avons pas séparé le mélange des deux isomères pour effectuer les essais préliminaires d'addition.

3.1.3.b) Essais d'addition d'organolithiens

Nous avons d'abord essayé d'ajouter directement le 4-chloro-3-pentenyllithium **422** sur des aldéhydes modèles et sur les composés **418** et **397**. En effet le composé **422** peut être généré à partir de **396** en présence de *t*-BuLi dans l'éther diéthylique^{392,393}.

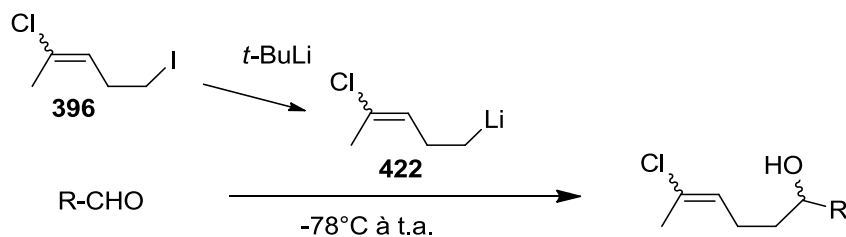


Schéma 240 : Addition nucléophile du 4-chloro-3-pentenyllithium (**422**) sur des aldéhydes modèles

Les différents essais effectués sont présentés dans le Tableau 16:

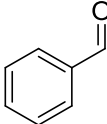
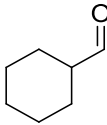
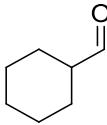
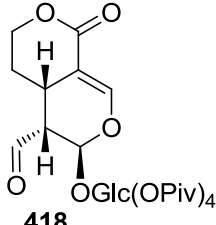
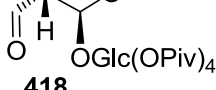
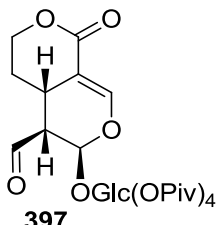
Essai	Aldéhyde	Base	Solvant	Résultat
1	 423	<i>t</i> -BuLi	THF	Pas de conversion
2	 424	<i>t</i> -BuLi	THF	Pas de conversion
3	 424	<i>t</i> -BuLi	Et ₂ O	100% conversion (RMN ¹ H)
4	 418	<i>t</i> -BuLi	Et ₂ O / THF	Dégradation
5	 418	<i>t</i> -BuLi	Et ₂ O	Dégradation
6	 397	<i>t</i> -BuLi	Et ₂ O	Dégradation

Tableau 16 : Essais d'addition du 4-chloro-3-pentenyllithium (**422**) sur différents aldéhydes

Lorsque la réaction est effectuée dans le THF, aucune réaction n'est observée que ce soit sur le benzaldéhyde (**423**) ou sur le cyclohexylcarbaldéhyde (**424**) (entrée 1 et 2). Lorsque la réaction est effectuée dans l'éther diéthylique avec le cyclohexylcarbaldéhyde (**424**), l'addition complète est observée après 2 h par RMN ¹H du brut (entrée 3).

A cause de la faible solubilité du composé **418** dans l'éther diéthylique, nous avons d'abord effectué la lithiation de **396** dans l'éther puis l'addition de **418** dissous dans le THF (entrée 4). Malheureusement cette procédure ne conduit qu'à de la dégradation. De même lorsque le composé **418** ou **397** est dissous dans l'éther diéthylique, il n'y a pas d'addition et le produit se dégrade (entrée 5 et 6). La grande réactivité des organolithiens est probablement responsable de cette dégradation des aldéhydes **418** et **397** hautement fonctionnalisés et sensibles aux conditions dures. C'est pourquoi nous avons envisagé d'utiliser des organométalliques plus doux comme les organozinciques.

3.1.3.c) Essais d'addition d'organozincique-cuprates mixtes

Les organozinciques sont des composés nucléophiles qui tolèrent une grande variété de groupements fonctionnels^{394–396}. Nous avons choisi de former le zincique à partir de l'iodure **396** *via* une insertion du zinc dans la liaison C-I. La réactivité de l'organozincique peut être augmentée par l'addition du sel

CuCN.LiCl, qui permet de former l'organozincique-cuprate mixte³⁹⁷. Bien que la nature exacte de l'espèce organométallique ne soit pas connue, le cuprate est décrit sous la forme R-Cu(CN)ZnI.

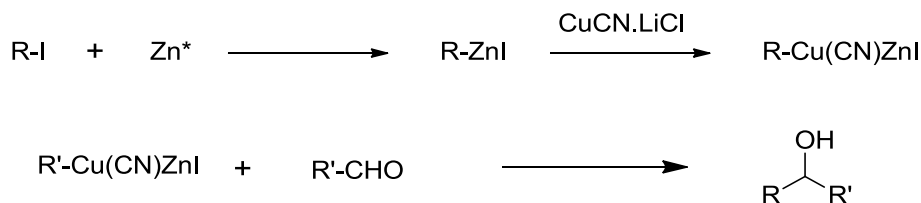


Schéma 241 : Synthèse générale des organozincique-cuprates mixtes et de leur addition sur un aldéhyde

Nous avons choisi d'utiliser la méthode de Knochel pour synthétiser l'organozincique-cuprate mixte. La première étape consiste à effectuer l'insertion du zinc activé dans la liaison C-I (**425**). Le zinc est préalablement activé par addition de dibromoéthane et de TMSCl³⁹⁴, puis l'iodure **396** dissous dans le THF est ajouté et après une nuit d'agitation le CuCN.LiCl est ajouté au mélange.

Après 10 à 30 min d'agitation, le milieu est refroidi (-20°C) et l'aldéhyde dissous dans le THF est ajouté.

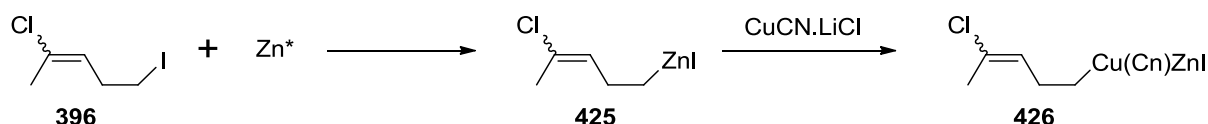


Schéma 242 : Schéma de formation de l'organozincique-cuprate mixte **426**

Afin de vérifier la formation de l'organozincique-cuprate **426**, nous avons réalisé des essais d'addition sur le cyclohexylcarbaldéhyde (**424**). Dans ces conditions la formation du composé **427** n'a pas été observée et le produit de départ n'a pas réagi.

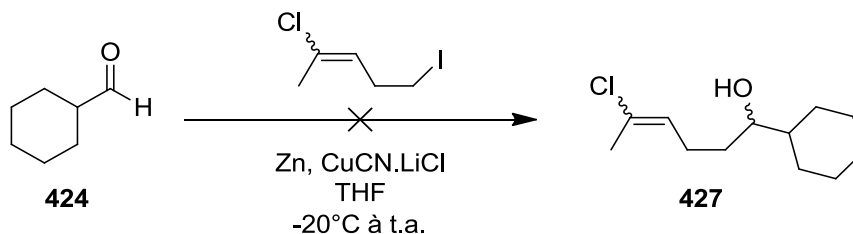


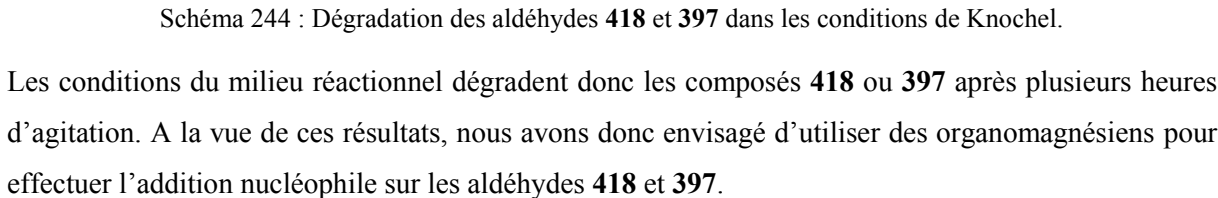
Schéma 243 : Aucune addition n'est observée sur le cyclohexylcarbaldéhyde **X88**

Ces résultats montrent que l'organozincique **426** ne se forme pas, différentes conditions ont été testées afin de forcer la formation de **426** :

- Activation du zinc par l'acide acétique puis par le dibromoéthane / TMSCl
- Large excès de zinc
- Chauffage au reflux pendant 24 heures avant l'addition du CuCN.LiCl

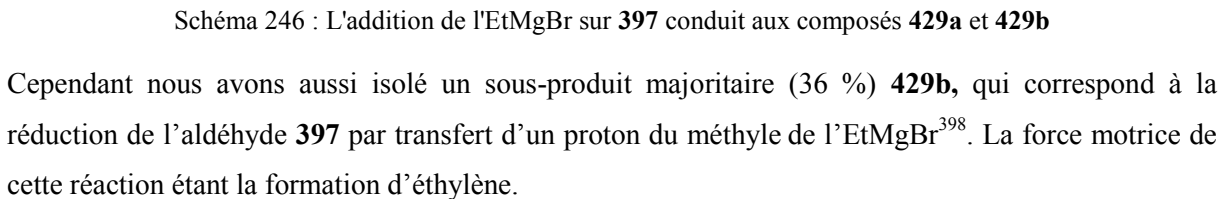
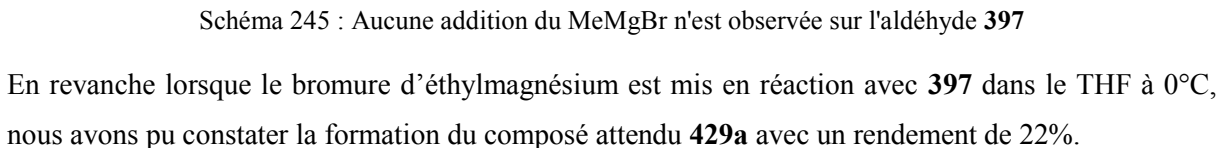
Aucun de ces essais n'a permis de former l'organozincique-cuprate mixte **426** pour qu'il s'additionne sur l'aldéhyde **424**.

De plus lorsque nous avons effectué les essais d'additions avec l'aldéhyde **418** ou **397**, aucune addition n'a été observée et seule la dégradation du composé de départ a eu lieu.



Dans un premier temps, afin de tester la réactivité des alkylmagnésiens sur l'aldéhyde **397**, nous avons utilisé des réactifs commerciaux, permettant d'effectuer un test rapide et donnant des informations sur la réactivité de l'aldéhyde **397**.

La réaction du CH_3MgBr sur le composé **397** dans le THF et dans l' Et_2O n'a pas montré d'addition du méthyle sur l'aldéhyde (**X94**).



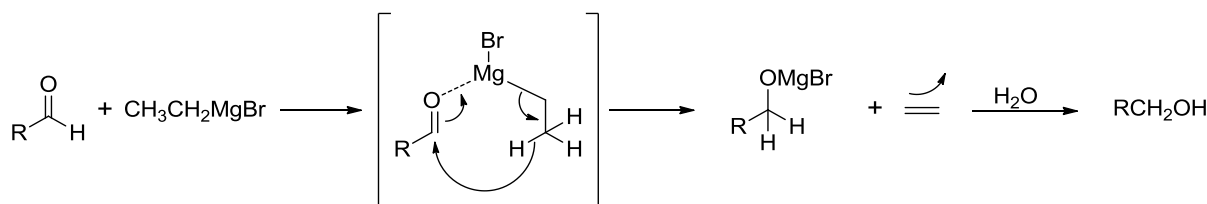


Schéma 247 : Mécanisme de réduction d'aldéhyde par l'EtMgBr

Faute de temps nous n'avons pas pu effectuer des essais supplémentaires avec **396** converti en organomagnésien ou avec le bromure de 4-buténemagnésium **409**. Cependant ces résultats montrent qu'il est possible d'ajouter un organomagnésien sur l'aldéhyde **397**. Bien que la réaction soit à optimiser, cela constitue le premier exemple d'addition nucléophile sur cet aldéhyde de sécoiridoïdes. L'organomagnésien **430**, issu de **396** pourrait être obtenu par échange lithium-magnésium par action de MgBr sur le lithien **422**.

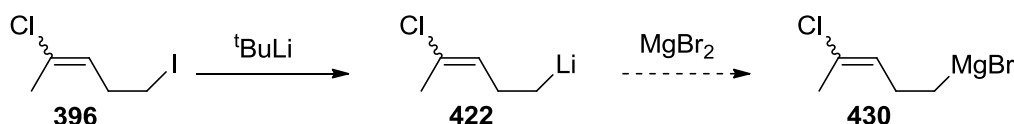


Schéma 248 : Voie de synthèse du magnésien **430**

Ainsi la possibilité d'addition des réactifs de Grignard permet de valider la première étape clé pour les stratégies d'addition nucléophile et métathèse.

3.2 Stratégie Umpolung

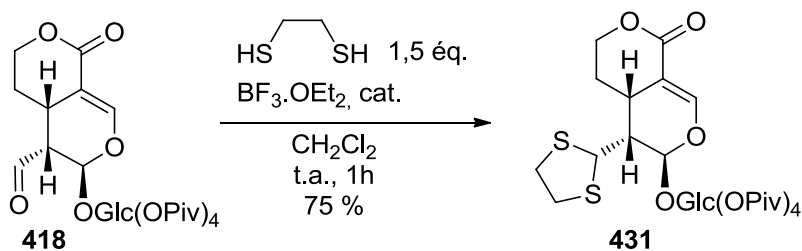
En parallèle de l'étude de la stratégie addition nucléophile, nous avons aussi étudié la stratégie Umpolung. Nous effectuerons d'abord la synthèse des dithianes à partir des aldéhydes **418** et **397**, puis les différents essais de déprotonation du carbone 7. Enfin nous verrons l'influence de la présence du sucre pour cette déprotonation.

3.2.1 Synthèse des dithianes

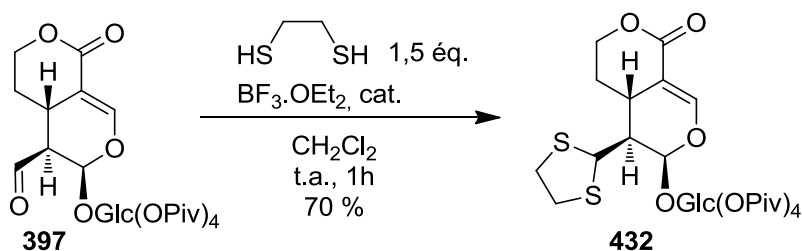
L'utilisation des dithianes comme synthons équivalents à un anion acylium a été développée par Corey³⁹⁹ et Seebach⁴⁰⁰ en 1965. Depuis de nombreux exemples de leurs utilisations en synthèse de produits naturels ont été décrits⁴⁰¹. Nous avons effectué la synthèse des 1,2-dithianes et des 1,3-dithianes à partir des aldéhydes **418** et **397**.

3.2.1.a) Synthèse de 1,2-dithianes **431** et **432**

Les 1,2-dithianes sont préparés à partir du 1,2-éthanedithiol en excès en présence de l'éthérate de trifluorure de bore BF₃OEt₂⁴⁰². La réaction avec l'aldéhyde **418** pendant une heure permet l'isolement du composé **431** avec un rendement de 75 %.

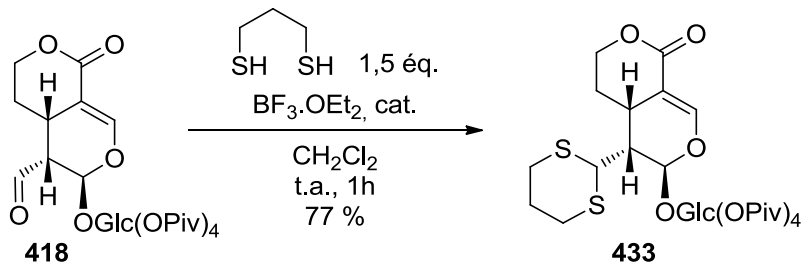
Schéma 249 : Formation du 1,2-dithiane **431** à partir de **418**

Le 1,2-dithiane **432** est obtenu à partir de l'aldéhyde **397** avec un rendement de 70 % après une heure de réaction à température ambiante.

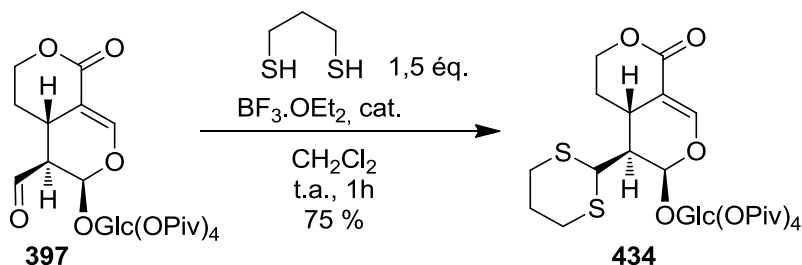
Schéma 250 : Formation du 1,2-dithiane **432** à partir de **397**

3.2.1.b) Synthèse des 1,3-dithianes **433** et **434**

Les 1,3-dithianes sont préparés à partir du 1,3-propanedithiol selon la même méthode. La réaction avec l'aldéhyde **418** forme le composé **433** avec un rendement de 75 % après une heure.

Schéma 251 : Formation du 1,3-dithiane **433** à partir de **418**

La réaction entre l'aldéhyde **397** et le 1,3-propanedithiol fournit le composé **434**, avec un rendement de 75 % après une heure.

Schéma 252 : Formation du 1,3-dithiane **434** à partir de **397**

Avec ces quatre dithianes nous allons effectuer des essais de déprotonation en C7, si l'anion peut être généré nous pourrions essayer d'alkyler la position 7.

3.2.2 Essais d'addition

Les bases généralement utilisées pour déprotoner les dithianes sont des bases lithiées comme le *n*-BuLi ou le *t*-BuLi pour des protons moins acides. Le LDA⁴⁰³ peut aussi être utilisé pour des composés plus sensibles. Afin d'observer une déprotonation, les dithianes ont été engagés en réaction avec la base dans le THF avec ou sans additifs (HMPA, TMEDA) à -78 °C, à -20°C et à 0°C. Des aliquotes sont prélevées au milieu réactionnel à différents temps de réaction (30 min, 1h, 2h, 6h, 16h) et de l'eau lourde est ajoutée à l'échantillon. La phase organique est ensuite séparée par ajout d'acétate d'éthyle puis est évaporée. Le résidu est redissous dans le CDCl₃ pour être analysé en RMN ¹H.

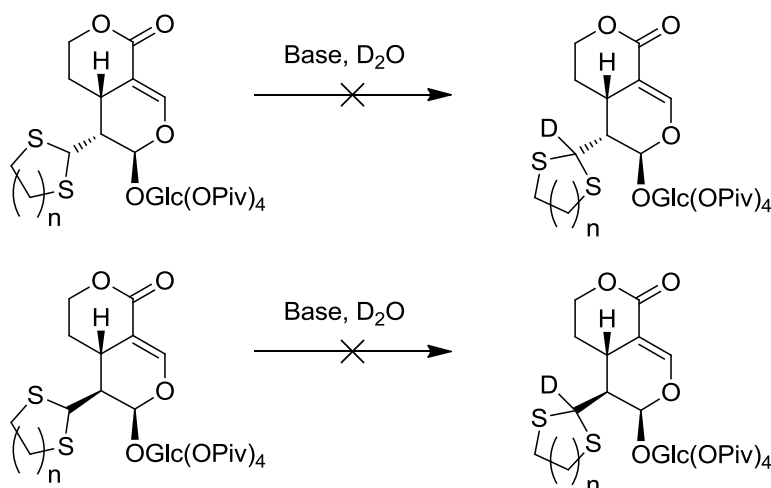


Schéma 253 : Essais de déprotonation des dithianes **431**, **433**, **432** et **434**

Les résultats sont regroupés dans le Tableau 17, quelque soit la base utilisée, aucun substrat n'a été déprotonné. L'ajout d'additif pour chélater le lithium comme le HMPA ou la TMEDA ne permet pas non plus une déprotonation.

Essai	n	stéréo	Base	Solvant	Additifs	Résultats
1	2	<i>cis</i>	<i>n</i> -BuLi	THF	HMPA	Aucune deutération
2	2	<i>cis</i>	LDA	THF	HMPA	Aucune deutération
3	2	<i>cis</i>	LDA	THF	TMEDA	Aucune deutération
4	1	<i>trans</i>	<i>t</i> -BuLi	THF	-	Aucune deutération
5	1	<i>trans</i>	<i>n</i> -BuLi	THF	-	Aucune deutération
6	2	<i>trans</i>	<i>t</i> -BuLi	THF	-	Aucune deutération
7	2	<i>trans</i>	<i>n</i> -BuLi	THF	-	Aucune deutération
8	2	<i>trans</i>	<i>t</i> -BuLi	THF	TMEDA	Aucune deutération

Tableau 17 : Résultats des essais de déprotonation des dithianes **431**, **432**, **433**, **434**

Ces résultats sont décevants car ils invalident la stratégie Umpolung, la présence du sucre perpivaloylé, très encombrant, peut empêcher l'accès au proton H8. Pour tester cette hypothèse nous avons synthétisé un dithiane déglucosylé, et effectué la réaction de déprotonation.

3.2.3 Influence du sucre

Le sucre du composé **434** est déprotégé par l'action du méthanolate de sodium dans le méthanol. Après 60 heures à température ambiante, le milieu est neutralisé par l'ajout de résine acide IRC-50 pour conduire au composé **435** avec un rendement de 75 %.

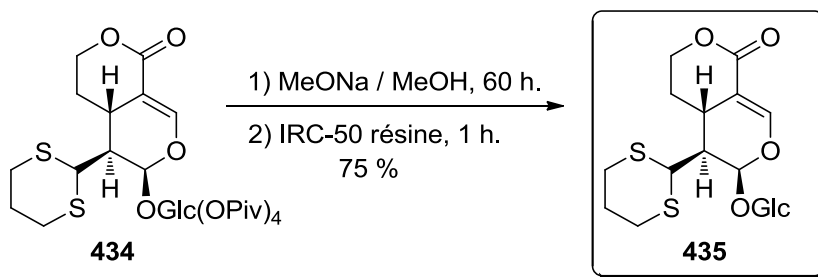


Schéma 254 : Déprotection du glucose de **434** par MeONa

Le composé **435** est déglucosylé par l'action de la β -glucosidase dans l'eau à 37°C pendant une nuit. Le composé brut **436** est obtenu après extraction par le CH_2Cl_2 et évaporation. Le groupement hydroxyle est ensuite directement protégé sous forme de groupement méthoxy par action du 2,2-diméthoxypropane en présence d'acide camphorsulphonique dans le méthanol à reflux pendant 7 heures. Le composé **437** est isolé avec un rendement de 37 % sur les deux étapes. Nous avons choisi de protéger l'hydroxyle par un groupement méthyle plus robuste qu'un groupement acétyle.

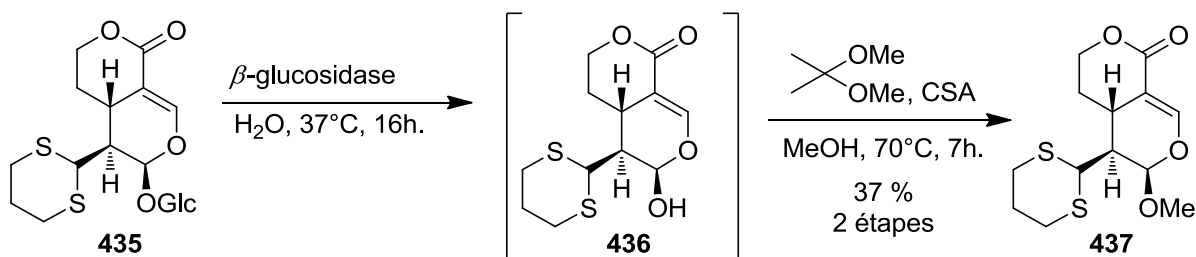


Schéma 255 : Formation de **437** à partir de **436**

L'utilisation de *t*-BuLi ou de *n*-BuLi dans le THF à -10°C n'a pas permis de déprotoner le dithiane **437**. En revanche après 5 heures de réaction des produits de dégradation apparaissent.

3.2.4 Réflexion sur l'impossibilité de la déprotonation des dithianes **431**, **433**, **432**, **434** et **437**

Il est étonnant que le composé **437** ne puisse pas être déprotoné car le groupement dithiane est en libre rotation autour de l'axe C8-C9 et le proton H8 est relativement accessible.

Cependant une étude attentive de la bibliographie montre que la déprotonation des dithianes de composé fortement oxygéné peut être capricieuse⁴⁰⁴. En effet Kinoshita *et al.*⁴⁰⁵ ont montré qu'il était pratiquement impossible de déprotoner le dithiane du composé **438** pour former l'anion **439**.

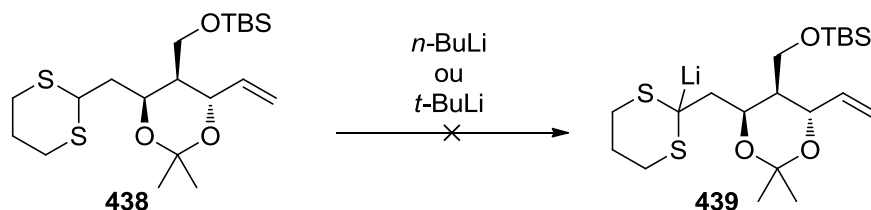


Schéma 256 : Le dithiane **438** n'est pas déprotoné par le *n*-BuLi ni par le *t*-BuLi

Pour expliquer cette observation, les auteurs ont pu générer l'anion **440** à partir du composé **441**. Ils observent alors une reprotonation très rapide de **440** à -25°C par abstraction d'un proton du THF (**442**).

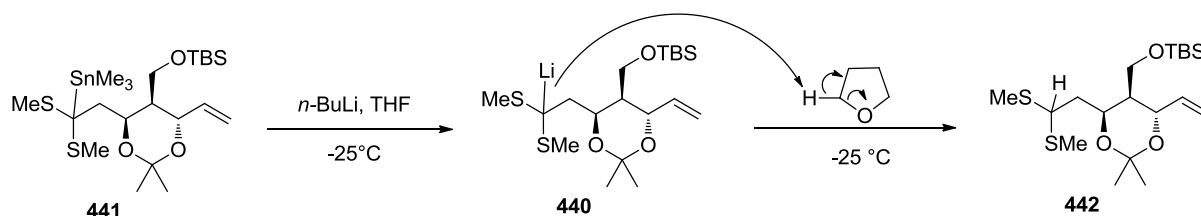


Schéma 257 : La forte basicité cinétique de **440** peut déprotoner le THF

Cette forte basicité cinétique des composés lithiés **439** et **440** serait due, selon les auteurs, à la déstabilisation du carbanion inhérente aux anions-d³ de structures polyoxygénées.

Ainsi la présence de 13 atomes d'oxygène dans **431**, **433**, **434**, **432** et de quatre atomes d'oxygène dans **437** peuvent expliquer que le proton H8 ne puisse pas être déprotoné.

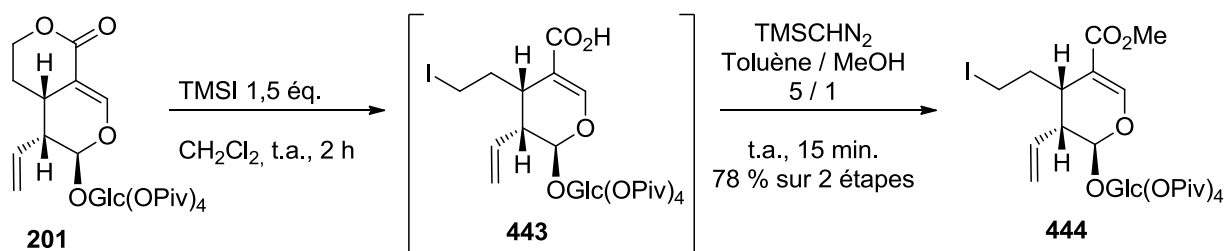
Ces observations et résultats invalident définitivement la stratégie Umpolung qui ne sera pas davantage étudiée.

4. Etude de la réactivité 7-iodo-(2',3',4',6'-O-tétrapivaloyl)sécologanol

En parallèle des études de la réactivité du carbone C8, nous avons effectué des études préliminaires de la réactivité du carbone C7. La formation d'une liaison C-I a été effectuée en C8, et un essai d'addition d'organomagnésien a été réalisé.

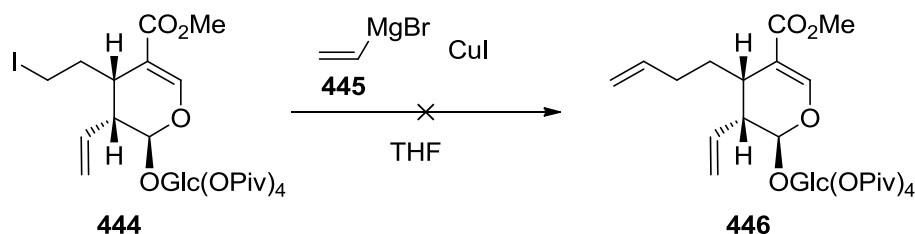
4.1.1 Ouverture par TMSI

La lactone du perpivaloylsweroside (**201**) est ouverte par le TMSI dans le CH₂Cl₂ après 2 heures de réaction à température pour former le composé **443** qui n'est pas isolé. Après traitement aqueux et évaporation de la phase organique, le résidu est redissous dans un mélange toluène / MeOH et l'ajout de TMSCHN₂ permet de méthoxiler l'acide carboxylique de **443** en 30 minutes à température ambiante. Le 7-iodo-(2',3',4',6'-O-tétrapivaloyl)sécologanol (**444**) est alors isolé avec un rendement global de 78 % à partir de **201**.


 Schéma 258 : Formation de l'iodure **444** en deux étapes séquentielles à partir de **201**

4.1.2 Essai d'addition sur le C7

Les réactions de couplage croisé avec des halogénures d'alkyles sont décrites comme problématiques et nécessitent souvent l'utilisation de catalyseur⁴⁰⁶. Comme modèle, pour étudier la réactivité du C7, nous avons utilisé le composé **444**. Nous avons d'abord envisagé la réaction entre **444** et le bromure de vinyle magnésium **445** sans catalyseur dans le THF. Dans ces conditions, aucune réaction n'est observée (**446**).


 Schéma 259 : L'addition du bromure de vinylmagnésium **445** sur **444** n'est pas observée

L'ajout d'un catalyseur comme le CuI⁴⁰⁷ ne permet pas de former le produit attendu. Deux types de conditions ont été testés :

- Ajout de **444** sur une solution de CuI et de **445** à -10°C dans le THF.
- Ajout de **445** sur une solution de **444** et CuI à -10°C dans le THF.

Des essais avec l'éther diéthylique comme solvant sont en cours, de plus nous allons utiliser le bromure d'isopropylmagnésium commercial **413** comme magnésien modèle car il est plus réactif que le bromure de vinyle magnésium **445**. Enfin d'autres catalyseurs au fer comme le FeCl₃⁴⁰⁸ ou le Fe(acac)₃⁴⁰⁹ peuvent être envisagés.

5. Conclusion du chapitre 5

Au cours de ce chapitre nous avons mis au point une rétrosynthèse des xénicines à partir de sécoiridoïdes et développé trois stratégies de synthèse de xénicanes à partir du sweroside (**4**). Ces trois stratégies utilisent un intermédiaire commun **397**. Ce synthon clé a pu être obtenu en 2 étapes à partir du perpivaloylsweroside (**201**) par ozonolyse suivi d'une épimérisation. Les études d'addition nucléophiles ont montré que l'utilisation d'organomagnésiens constitue la voie la plus prometteuse pour la suite de la synthèse. Les échecs de déprotonation des dithianes issus de **397** ont permis d'éliminer la stratégie Umpolung comme voie de synthèse. Enfin l'étude de l'addition de vinyles magnésiens sur le carbone 7 du composé modèle **444** est en cours.

Il reste de nombreuses étapes avant l'obtention de la tsitsixénicine A (**8**), cependant avec le premier synthon clé en main et les études de réactivités qui ont été réalisées, la formation du cyclononène apparaît plus proche que jamais. Ainsi ce chapitre a permis de poser les premières (et difficiles) étapes pour l'obtention de xénicanes à partir de sécoiridoïdes. L'achèvement de cette synthèse permettra la production de nombreux analogues naturels ou non de xénicines ainsi que leurs évaluations biologiques.

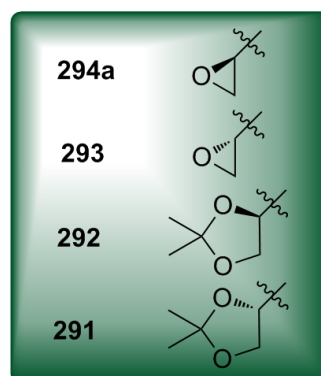
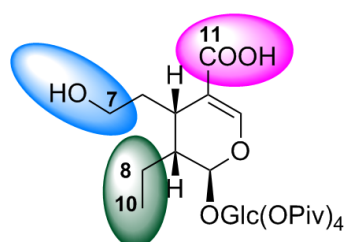
Conclusion générale et perspectives

La Nature est une source inépuisable d'inspiration et de diversité chimique donnant accès à nombreux composés complexes et chiraux. La valorisation chimique des produits naturels majoritaires extraits de plantes passe par leur utilisation comme matières premières renouvelable en synthèse.

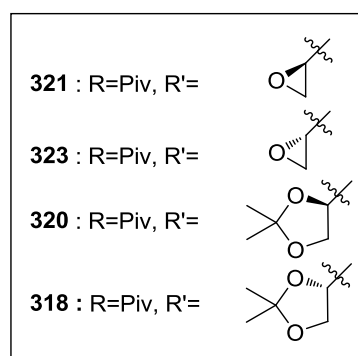
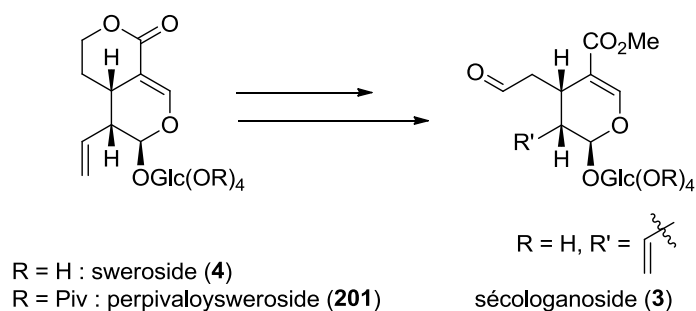
Plus particulièrement dans le cadre de cette thèse, nous avons montré que les sécoiridoïdes d'*Olea europaea* et du *Lonicera tatarica*, sont abondants, hautement fonctionnalisés et constituent des matières premières chirales renouvelables.

Grâce à la mise au point de procédés verts, limitant l'utilisation de produits toxiques (silice, solvant chlorés) trois sécoiridoïdes (oleuropéine (**2**), sécologanoside (**3**), sweroside (**4**)) ont pu être extraits et purifiés à l'échelle de la dizaine de gramme (10-100 g).

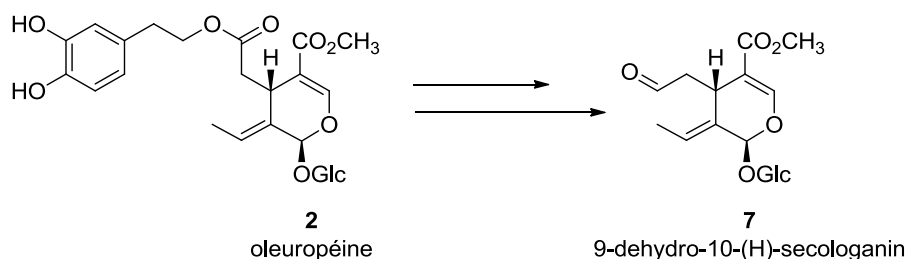
L'étude de la réactivité de ces composés nous a conduit à développer une nouvelle méthode douce d'ouverture de lactone par le TMSNa, en conditions aprotique et anhydre. L'application de cette nouvelle méthode sur le sweroside (**4**) et ses dérivés a permis l'obtention de nouveaux synthons chiraux originaux.



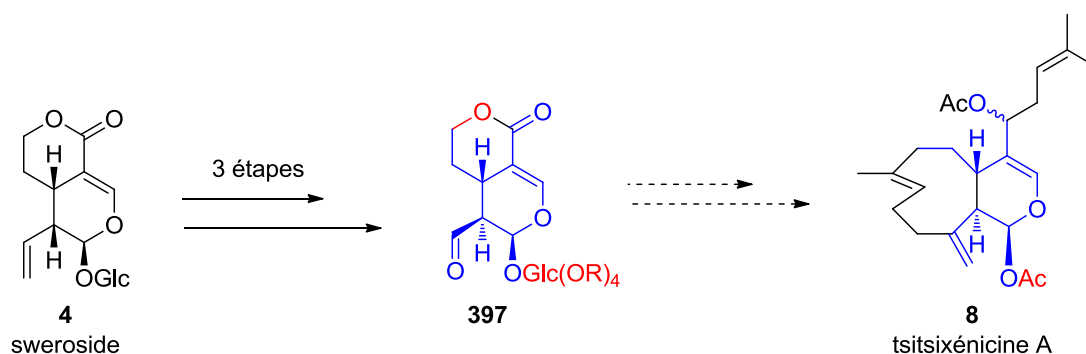
L'utilisation du TMSNa a aussi permis de mettre au point une nouvelle synthèse du sécologanoside (**3**) à partir du sweroside (**4**) *via* un procédé en trois étapes séquentielles, réalisable en 24 heures. L'application de ce procédé a été étendue avec succès sur les dérivés du sweroside permettant l'accès à de nouveaux analogues du sécologanoside.



L'étude de la réactivité de l'oleuropéine (**2**) a permis la synthèse d'un nouveau dérivé isomérique du sécologanoside.

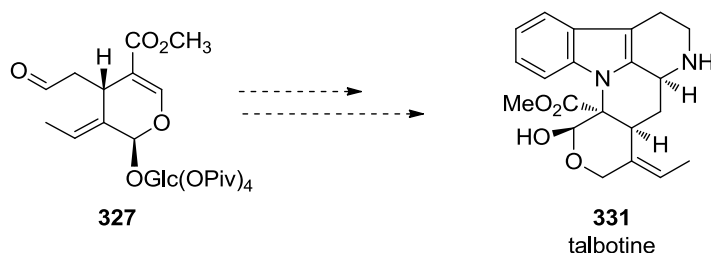


Enfin grâce à ces différentes études des réactivités des matières premières, nous avons pu sélectionner le sweroside (**4**) comme produit de départ pour la synthèse de xénicanes. Bien que la synthèse n'ait pas pu être achevée, le synthon clé **397** a pu être obtenu à partir du sweroside (**4**) en 3 étapes. Deux stratégies de synthèses ont été testées, il est apparu que la stratégie Umpolung n'était pas valide, et que la stratégie par addition nucléophile pourrait être réalisée par l'utilisation d'organomagnésiens.



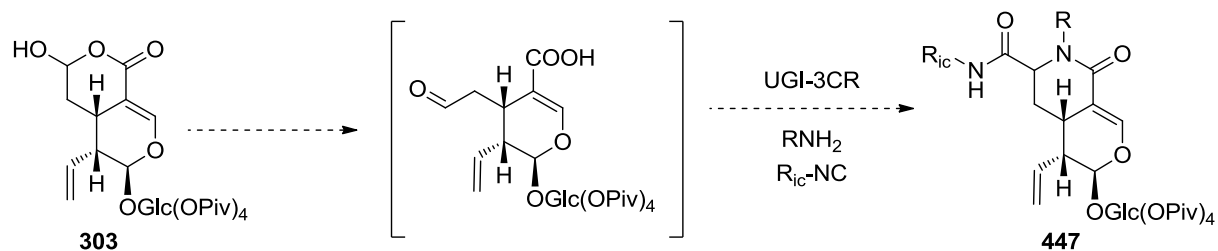
Ainsi nous avons mis au point une nouvelle chimie autour des sécoiridoïdes, ce savoir-faire pourra être valorisé dans le futur pour plusieurs objectifs :

- Terminer la synthèse de xénicanes et effectuer les tests biologiques de ces composés.
- Synthétiser de nouveaux alcaloïdes indolo-monoterpéniques à partir des analogues de sécologanoside. Par exemple la talbotine (**331**)³¹² peut être synthétisée à partir du composé **327**.



- Utiliser les synthons intermédiaires pour l'obtention de nouvelles molécules originales.

Par exemple, nous pouvons envisager d'utiliser le composé **303** comme produit de départ bi-fonctionnel (aldéhyde + acide) pour la synthèse de dérivés du bakankoside **447** via une réaction d'Ugi à 3 composants⁴¹⁰.



Ces travaux ont donc permis de montrer l'intérêt des sécoiridoïdes comme matière première chirale renouvelable grâce à la mise au point d'un ensemble de savoir-faire de la plante jusqu'à des synthons chiraux valorisables en synthèse.

Bibliographie

- (1) Bruneton, J. *Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales*, 4ème édition; Tech & Doc: Paris, 2009.
- (2) Dinda, B.; Debnath, S.; Harigaya, Y. Naturally occurring secoiridoids and bioactivity of naturally occurring iridoids and secoiridoids. A review, part 2. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 689–728.
- (3) Dinda, B.; Chowdhury, D. Naturally Occurring Iridoids, Secoiridoids and Their Bioactivity. An Updated Review, Part 3. *Chem. Pharm. Bull.* **2009**, *57*, 765–796.
- (4) Dinda, B.; Debnath, S.; Banik, R. Naturally occurring iridoids and secoiridoids. An updated review, part 4. *Chem. Pharm. Bull.* **2011**, *59*, 803–33.
- (5) Bianco, A. The Chemistry of Iridoids. In *Stud. Nat. Prod. Chem. Vol. 7*; Elsevier Science B.V.: Amsterdam, 1990; pp. 439–497.
- (6) Franzyk, H. Synthetic aspects of iridoid chemistry. In *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **79**; 2000; pp. 1–114.
- (7) Cavill, G.; Ford, D.; Locksley, H. The chemistry of ants. I. Terpenoid constituents of some Australian Iridomyrmex species. *Aust. J. Chem.* **1956**, *9*, 288.
- (8) Cavill, G.; Ford, D. The Chemistry of Ants. III. Structure and Reactions of Iridodial. *Aust. J. Chem.* **1960**, *13*, 295.
- (9) Briggs, L. H.; Cain, B. F.; Le Quesne, P. W.; Shoolery, J. N. The structure of asperuloside. *Tet. Lett.* **1963**, *4*, 69–74.
- (10) Bobbit, J. M.; Segebarth, K. P. *Cyclopentanoid Terpene Derivatives*; Dekker, M: New-York, 1969.
- (11) Inouye, H.; Ueda, S.; Nakamura, Y. Zur biosynthese der bitteren glucoside der gentianazeen, des gentiopicrosids, des swertiamarins und des swerosids. *Tet. Lett.* **1967**, *8*, 3221–3226.
- (12) Jensen, S. R.; Franzyk, H.; Wallander, E. Chemotaxonomy of the Oleaceae: iridoids as taxonomic markers. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 213–31.
- (13) Boros, C. A.; Stermitz, F. R. Iridoids. An Updated Review. Part I. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 1055–1147.
- (14) Morota, T.; Sasaki, H.; Nishimura, H.; Sugama, K.; Chin(Chen Zhengxiong), M.; Mitsuhashi, H. Two iridoid glycosides from *Rehmannia glutinosa*. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2149–2153.
- (15) Oshio, H.; Inouye, H. Iridoid glycosides of *Rehmannia glutinosa*. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 133–138.
- (16) Anet, F.; Hughes, G.; Ritchie, E. Alkaloids of Australian Strychnos species. I. Constituents of *S. lucida* R.Br. and *S. psilosperma* F.Muell. *Aust. J. Chem.* **1953**, *6*, 58.

- (17) Mustafayeva, K.; Mahiou-Leddert, V.; Suleymanov, T.; Kerimov, Y.; Ollivier, E.; Elias, R. Chemical constituents from the roots of *Cephalaria kotschyi*. *Chem. Nat. Compd.* **2011**, *47*, 839–842.
- (18) Endo, T.; Taguchi, H. The Constituents of *Gardenia jasminoides* Geniposide and Genipin-gentiobioside. *Chem. Pharm. Bull.* **1973**, *21*, 2684–2688.
- (19) Murai, F.; Tagawa, M.; Inouye, H.; Ishida, T.; Inoue, M. A new iridoid glucoside, nepetariaside, from *Nepeta cataria*. *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 2533–2537.
- (20) Linde, H. H. A.; Ragab, M. S. Stereochemie und Konformation des Swerosids. *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 991–993.
- (21) Asahina, Y.; Asano, J.; Tanase, Y.; Ueno, Y. Über das Gentiopikrin (I. Mitteil.). *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1936**, *69*, 771–779.
- (22) Battersby, A. R.; Burnett, A. R.; Parsons, P. G. Preparation of secologanin: its conversion into ipecoside and its role in indole alkaloid biosynthesis. *Chem. Commun. (Cambridge, U. K.)* **1968**, 1280.
- (23) Souzu, I.; Mitsuhashi, H. Structures of iridoids from *Lonicera Morrowii* A. Gray. *Tet. Lett.* **1969**, *32*, 2725–2728.
- (24) Gariboldi, P.; Jommi, G. Secoiridoids from *Olea europaea*. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 865–869.
- (25) Shen, Y.-C.; Lin, C.-Y.; Chen, C.-H. Secoiridoid glycosides from *Jasminum multiflorum*. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 2905–2912.
- (26) Panizzi, L.; Scarpati, M.; Oriente, G. The constitution of oleuropein, a bitter glucoside of the olive with hypotensive action. *Gazz. Chim. Ital.* **1960**, *90*, 1449–1485.
- (27) Bock, K.; Jensen, S. R.; Nielsen, B. J.; Johnson, I.; Taticchi, A.; Anthonsen, T. Secogalioside, an Iridoid Glucoside from *Galium album* Mill. and ¹³C NMR Spectra of Some Seco-iridoid Glucosides. *Acta Chem. Scand.* **1976**, *30b*, 743–748.
- (28) Abdallah, O. M. Phenolic glucoside and other constituents of *Dipsacus laciniatus*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 2805–2806.
- (29) Magiatis, P.; Skaltsounis, A.-L.; Tillequin, F.; Seguin, E.; Cosson, J.-P. Coelobillardin, an iridoid glucoside dimer from *Coelospermum billardieri*. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 415–418.
- (30) El-Naggar, L. J.; Beal, J. L. Iridoids. A review. *J. Nat. Prod.* **1980**, *43*, 649–707.
- (31) Coppen, J. J. W.; Cobb, A. L. The occurrence of iridoids in *Plumeria* and *Allamanda*. *Phytochemistry* **1983**, *22*, 125–128.

- (32) Kupchan, S. M.; Dessertine, A. L.; Blaylock, B. T.; Bryan, R. F. Isolation and structural elucidation of allamandin, and antileukemic iridoid lactone from *allamanda cathartica*. *J. Org. Chem* **1974**, *39*, 2477–2482.
- (33) Gränicher, F.; Christen, P.; Kamalaprija, P.; Burger, U. An iridoid diester from *valeriana officinalis* var. *sambucifolia* hairy roots. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 103–105.
- (34) Taguchi, H.; Endo, T. Patrinoside, a new iridoid glycoside from *Patrinia scabiosaefolia*. *Chem. Pharm. Bull.* **1974**, *22*, 1935–1937.
- (35) Jensen, S. R.; Mikkelsen, C. B.; Nielsen, B. J. Iridoid mono- and di-glycosides in *Mentzelia*. *Phytochemistry* **1981**, *20*, 71–83.
- (36) Bianco, A.; Iavarone, C.; Trogolo, C. Structure of eucommiol, a new cyclopentenoid-tetrol from *Eucommia Ulmoides*. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 4117–4121.
- (37) Jensen, S. R.; Kirk, O.; Nielsen, B. J.; Norrestam, R. 9-hydroxy substituted iridoids from *Gelsemium sempervirens*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1725–1731.
- (38) Van der Eycken, E.; Van der Eycken, J.; Vandewalle, M. Iridoids: the revised structure of specionin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1719.
- (39) Joshi, K. C.; Singh, P.; Taneja, S.; Cox, P. J.; Allan Howie, R.; Thomson, R. H. New terpenoid aldehydes from *Kigelia pinnata*: crystal structure of pinnatal. *Tetrahedron* **1982**, *38*, 2703–2708.
- (40) Kobayashi, H.; Karasawa, H.; TOSHIO, M.; Fukushima, S. Studies on the constituents of *Cistanche Herba*. II. Isolation and structures of new iridoids, cistanin and cistachlorin. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 1729–1734.
- (41) Johnson, R. D.; Waller, G. R. Isolation of actinidine from *valeriana officinalis*. *Phytochemistry* **1971**, *10*, 3334–3335.
- (42) Roby, M. R.; Stermitz, F. R. Penstemonoside and Other Iridoids from *Castilleja rhexifolia*. Conversion of Penstemonoside to the Pyridine Monoterpene Alkaloid Rhexifoline. *J. Nat. Prod.* **1984**, *47*, 854–857.
- (43) Djerassi, C.; Kutney, J. P.; Shamma, M. Alkaloid Studies—XXXII. *Tetrahedron* **1962**, *18*, 183–188.
- (44) Chi, Y.-M.; Yan, W.-M.; Chen, D.-C.; Hiroshi, N.; Yoichi, I.; Ushio, S. A monoterpene alkaloid from *Incarvillea sinensis*. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 2930–2932.
- (45) Bourquelot, E.; Hérissé, H. Ueber das Bakankosin, ein durch Emulsin spaltbares Glykosid aus den Samen von *Strychnos Vacacoua* Baill. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* **1909**, *247*, 56–64.
- (46) Erdelmeier, C. A.; Wright, A. D.; Orjala, J.; Baumgartner, B.; Rali, T.; Sticher, O. New indole alkaloid glycosides from *Nauclea orientalis*. *Planta Med.* **1991**, *57*, 149–52.

- (47) Uesato, S.; Kanomi, S.; Iida, A.; Inouye, H.; Zenk, M. H. Mechanism for iridane skeleton formation in the biosynthesis of secologanin and indole alkaloids in *Lonicera tatarica*, *Catharanthus roseus* and suspension cultures of *Rauwolfia serpentina*. *Phytochemistry* **1986**, *25*, 839–842.
- (48) Uesato, S.; Matsuda, S.; Inouye, H. Mechanism for iridane skeleton formation from acyclic monoterpenes in the biosynthesis of secologanin and vindoline in *Catharanthus roseus* and *Lonicera morrowii*. *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 1671–1674.
- (49) Inoue, K.; Tanahashi, T.; Inouye, H.; Kuwajima, H.; Takaishi, K. Intermediacy of 6-hydroxyloganin in the ring cleavage course of loganin to secologanin. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2971–2979.
- (50) Guarnaccia, R.; Botta, L.; Coscia, C. J. Biosynthesis of acidic iridoid monoterpene glucosides in *Vinca Rosea*. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 7079–7084.
- (51) Damtoft, S.; Franzyk, H.; Jensen, S. R. Biosynthesis of iridoids in *Syringa* and *Fraxinus*: Carbocyclic iridoid precursors. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 785–792.
- (52) Damtoft, S.; Franzyk, H.; Jensen, S. R. Biosynthesis of secoiridoids in *Fontanesia*. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 615–621.
- (53) Contin, A.; van der Heijden, R.; Lefeber, A. W. .; Verpoorte, R. The iridoid glucoside secologanin is derived from the novel triose phosphate/pyruvate pathway in a *Catharanthus roseus* cell culture. *FEBS Lett.* **1998**, *434*, 413–416.
- (54) Kuwajima, H.; Tanahashi, T.; Inoue, K.; Inouye, H. Biosynthesis of Oleoside-, 10-Hydroxyoleoside- and Ligustalosite-Type Glucosides from Secologanin. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1634–1637.
- (55) Damtoft, S.; Franzyk, H.; Jensen, S. R. Biosynthesis of secoiridoid glucosides in oleaceae. *Phytochemistry* **1993**, *34*, 1291–1299.
- (56) Barton, D.; Meth-Cohn, O.; Mori, K.; Nakanushi, K. *Comprehensive Natural Products Chemistry*, vol.8; Elsevier.; Amsterdam, 1999; pp. 152–157 et 302–307.
- (57) Lampert, E. C.; Dyer, L. a; Bowers, M. D. Chemical defense across three trophic levels: *Catalpa bignonioides*, the caterpillar *Ceratomia catalpae*, and its endoparasitoid *Cotesia congregata*. *J. Chem. Ecol.* **2011**, *37*, 1063–70.
- (58) Reudler, J. H.; Biere, A.; Harvey, J. a; van Nouhuys, S. Differential performance of a specialist and two generalist herbivores and their parasitoids on *Plantago lanceolata*. *J. Chem. Ecol.* **2011**, *37*, 765–78.
- (59) Bowers, M. D. Unpalatability as a defense strategy of western checkerspot butterflies (*Euphydryas*, *Nymphalidae*). *Evolution* **1981**, *35*, 367–375.
- (60) Theodoratus, D.; Bowers, M. Effects of sequestered iridoid glycosides on prey choice of the prairie wolf spider, *Lycosa carolinensis*. *J. Chem. Ecol.* **1999**, *25*, 283–295.

-
- (61) Willinger, G.; Dobler, S. Selective sequestration of iridoid glycosides from their host plants in Longitarsus flea beetles. *Biochem. Syst. Ecol.* **2001**, *29*, 335–346.
- (62) Villasenor, I. M. Bioactivities of Iridoids. *Anti-Inflammatory Anti-Allergy Agents Med. Chem.* **2007**, *6*, 307–314.
- (63) Tundis, R.; Loizzo, M. R.; Menichini, F.; Statti, G. A.; Menichini, F. Biological and Developments Pharmacological Activities of Iridoids : Recent. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2008**, *8*, 399–420.
- (64) Szabó, L. F. Rigorous Biogenetic Network for a Group of Indole Alkaloids Derived from Strictosidine. *Molecules* **2008**, *13*, 1875–1896.
- (65) Brown, R. T.; Pratt, S. B. Stereoselective synthesis of yohimbine alkaloids from secologanin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1980**, *5*, 165.
- (66) Brown, R. T.; Pratt, S. B.; Richards, P. Enantiospecific synthesis of (–)-3-iso-19,20-dehydro- β -yohimbine from secologanin: a route to normal and pseudo stereoisomers of yohimbine. *Tet. Lett.* **2000**, *41*, 5627–5630.
- (67) Brown, R. T.; Leonard, J.; Sleight, S. K. “One-pot” biomimetic synthesis of 19 β -heteroyohimbine alkaloids. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1977**, 636.
- (68) T. Brown, R.; Leonard, J. Reversible trapping of labile 21-dehydroheteroyohimbines as 21-cyano adducts. *Tet. Lett.* **1977**, *18*, 4251–4254.
- (69) Brown, R. T.; Dauda, B. E. N.; Santos, C. A. M. Hydrolysis and selective reduction with yeast: enantiospecific synthesis of antirrhine from secologanin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 825.
- (70) Brown, R. T.; Dauda, B. E. .; Jameson, S. B.; Santos, C. A. . Short syntheses of 16-methoxycarbonyl-16,17-dehydro-antirrhine and its 10-oxy derivatives from secologanin. *Tet. Lett.* **2000**, *41*, 8861–8865.
- (71) Brown, R. T.; Jianli, L.; Santos, C. a. . Biogenetically patterned synthesis of camptothecin and 20-deoxycamptothecin. *Tet. Lett.* **2000**, *41*, 859–862.
- (72) Brown, R. T.; Kandasamy, M. Enantiospecific, diastereoselective synthesis of Aspidosperma alkaloid analogues from secologanin. *Tet. Lett.* **2000**, *41*, 3547–3550.
- (73) Brown, R. T.; Curless, D. Stereospecific synthesis of erythro Cinchona alkaloids from secologanin. *Tet. Lett.* **1986**, *27*, 6005–6008.
- (74) Brown, R. T.; Lashford, A. G.; Pratt, S. B. Stereoconservative synthesis of Ipecac alkaloids from secologanin. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1979**, 367, 367.
- (75) Brown, R. T.; Chapple, C. L.; Duckworth, D. M.; Platt, R. Conversion of secologanin into elenolic acid and 18-oxayohimban alkaloids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1976**, 160.

- (76) Hamilton, R. G.; Saunders, N.; McLean, S. The synthesis of 3- α - and 3- β -dihydrocadambine from secologanin. *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 284–287.
- (77) Brown, R. T.; Duckworth, D. M.; Santos, C. A. M. Biogenetically patterned synthesis of cadambine. *Tet. Lett.* **1991**, *32*, 1987–1990.
- (78) Aimi, N.; Seki, H.; Sakai, S. Synthesis of lyaloside, a prototypal beta-carboline gluco indole alkaloid in rubiaceous plants. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 2588–2590.
- (79) Ohmori, O.; Takayama, H.; Kitajima, M.; Aimi, N. First Synthesis of Neoalangiside, a New Tetrahydroisoquinoline-monoterpene Glucoside with Oxygen Functions at Unusual C1, C2 Positions. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1512–1513.
- (80) Tietze, L. F.; Baertels, C. Synthesis of the monoterpene alkaloid bakankosin from secologanin. *Tetrahedron* **1989**, *45*, 681–686.
- (81) Purdy, J. R.; Hamilton, R. G.; Akhter, L.; McLean, S. Selective transformations of secologanin: dihydroxylation. *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 210–214.
- (82) Saunders, G. N.; Purdy, J. R.; McLean, S. Selective transformations of secologanin: epoxidation. *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 276–281.
- (83) Galan, M. C.; O'Connor, S. E. Semi-synthesis of secologanin analogues. *Tet. Lett.* **2006**, *47*.
- (84) Inouye, H.; Yoshida, T.; Nakamura, Y.; Tobita, S. Uber die Monoterpenglucoside. XI. Chemische Korrelation des Asperulosids mit Swerosid. *Chem. Pharm. Bull.* **1970**, *18*, 1889–1899.
- (85) Nyburg, S. C.; Siew, P. Y.; Saunders, G. N.; Purdy, J. R.; McLean, S. X-ray crystal structure analysis of a bisepoxide derived from secologanin: the structure and absolute configuration. *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 282–283.
- (86) McCoy, E.; Galan, M. C.; O'Connor, S. E. Substrate specificity of strictosidine synthase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 2475–8.
- (87) Horn, M. M.; Drewes, S. E.; Brown, N. J.; Munro, O. Q.; Meyer, J.; Mathekga, A. D. M. Transformation of naturally-occurring 1,9-trans-9,5-cis sweroside to all trans sweroside during acetylation of sweroside aglycone. *Phytochemistry* **2001**, *57*, 51–56.
- (88) Ikeda, T.; Hutchinson, C. R.; Meier, H.; Tietze, L.-F. Stereochemical correlations of secoiridoid aglucones. *Tet. Lett.* **1984**, *25*, 2427–2430.
- (89) Le Tutour, B.; Didier, G. Antioxidative activities of *Olea europaea* related phenolic compounds. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1173–1178.
- (90) Bourquelot, E.; Vintilesco, J. Sur l'oleuropéine, nouveau principe de nature glucosidique retiré de l'Olivier (*Olea europaea* L.). *Acad. Sci. Paris* **1908**, *147*, 533–536.

-
- (91) Inouye, H.; Yoshida, T.; Tobita, S.; Tanaka, K.; Nishioka, T. Absolute struktur des oleuropeins und einiger verwandter glucoside. *Tet. Lett.* **1970**, *11*, 2459–2464.
- (92) Inouye, H.; Yoshida, T.; Tobita, S.; Tanaka, K.; Nishioka, T. Über die Monoterpenglucoside und Verwandte Narturstoffe-XII. *Tetrahedron* **1974**, *30*, 201–209.
- (93) Walter, W. M.; Fleming, H. P.; Etchells, J. L. Preparation of antimicrobial components from green olives. *Appl. Microbiol.* **1973**, *26*, 773–776.
- (94) Capasso, R.; Evidente, A.; Visca, C.; Gianfreda, L.; Maremonti, M.; Jr, G. G.; Agrarie, C.; Federico, N. Production of Glucose and Bioactive Aglycone by Chemical and Enzymatic Hydrolysis of Purified Oleuropein from Olea Europea. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **1996**, *61*, 365–377.
- (95) Briante, R.; La Cara, F.; Tonziello, M. P.; Febbraio, F.; Nucci, R. Antioxidant Activity of the Main Bioactive Derivatives from Oleuropein Hydrolysis by Hyperthermophilic β -Glycosidase. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 3198–3203.
- (96) Guiso, M.; Marra, C. Highlights in oleuropein aglycone structure. *Nat. Prod. Res.* **2005**, *19*, 105–9.
- (97) Bianco, A. D.; Piperno, A.; Romeo, G.; Uccella, N. NMR Experiments of Oleuropein Biomimetic Hydrolysis. *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3665–3668.
- (98) Limioli, R.; Consonni, R.; Ottolina, G.; Marsilio, V.; Bianchi, G.; Zetta, L. ^1H and ^{13}C NMR characterization of new oleuropein aglycones. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1995**, 1519.
- (99) Bianco, A.; Jensen, S. R.; Olesen, J.; Passacantilli, P.; Ramunno, A. Acid Rearrangement of Secoiridoids Related to Oleuropein and Secologanin. *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 4349–4354.
- (100) Hamza, M.; Khoufi, S.; Sayadi, S. Fungal enzymes as a powerful tool to release antioxidants from olive mill wastewater. *Food Chem.* **2012**, *131*, 1430–1436.
- (101) Puerta, R. D.; Gutierrez, V. R.; Hoult, J. R. S. Inhibition of Leukocyte 5-Lipoxygenase by Phenolics from Virgin Olive Oil. *Biochem. Pharmacol.* **1999**, *57*, 445–449.
- (102) Petroni, A.; Salami, M.; Papini, N.; Montedorol, G. F.; Galli, C. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb. Res.* **1995**, *78*, 151–160.
- (103) Liu, J.; Schalch, W.; Wang-Schmidt, Y.; Wertz, K. Novel use of hydroxytyrosol and olive extracts / concentrate containing it, WO2008128552 (A1), **2008**.
- (104) Tomohiro, C.; Naito, T.; Ishiwatari, S. Compositions for potentiating glutathione, US2006/257351 A1, **2006**.

- (105) Owen, R. W.; Mier, W.; Giacosa, A.; Hull, W. E.; Spiegelhalder, B.; Bartsch, H. Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clin. Chem.* **2000**, *46*, 976.
- (106) Maiuri, M. C.; Stefano, D. D.; Meglio, P. D.; Irace, C.; Savarese, M.; Sacchi, R.; Cinelli, M. P.; Carnuccio, R. Hydroxytyrosol, a phenolic compound from virgin olive oil, prevents macrophage activation. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **2005**, *371*, 457–465.
- (107) Capozzi, F.; Piperno, A.; Uccella, N. Oleuropein Site Selective Hydrolysis by Technomimetic Nuclear Magnetic Resonance Experiments. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 1623–1629.
- (108) Hanessian, S.; Mainetti, E.; Lecomte, F. Synthesis and stereochemical confirmation of the secoiridoid glucosides nudiflosides D and A. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4047–9.
- (109) Tanahashi, T.; Takenaka, Y.; Nagakura, N.; Nishi, T. Three Secoiridoid Glucosides from *Jasminum nudiflorum*. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1311–1315.
- (110) Tanahashi, T.; Takenaka, Y.; Nagakura, N.; Nishi, T. Five Secoiridoid Glucosides Esterified with a Cyclopentanoid Monoterpene Unit from *Jasminum nudiflorum*. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1200–1204.
- (111) Takenaka, Y.; Tanahashi, T.; Taguchi, H.; Nagakura, N.; Nishi, T. Nine New Secoiridoid Glucosides from *Jasminum nudiflorum*. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 384–389.
- (112) Inanaga, J.; Hirata, K.; Saeki, H.; Katsuki, T.; Yamaguchi, M. A Rapid Esterification by Means of Mixed Anhydride and Its Application to Large-ring Lactonization. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1979**, *52*, 1989–1993.
- (113) Baldioli, M.; Servili, M.; Perretti, G.; Montedoro, G. Antioxidant activity of tocopherols and phenolic compounds of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1996**, *73*, 1589–1593.
- (114) Luque de Castro, M. D.; Priego-Capote, F. Chapter 28 – Extraction of Oleuropein and Related Phenols from Olive Leaves and Branches. In *Olives Olive Oil Health Dis. Prev.*; Elsevier, 2010; pp. 259–273.
- (115) Galli, C.; Visiolo, F. Antioxidant and other activities of phenolics in olives/olive oil, typical components of the Mediterranean diet. *Lipids* **1999**, *34*, S23–S26.
- (116) Servili, M.; Esposto, S.; Veneziani, G.; Urbani, S.; Taticchi, A.; Di Maio, I.; Selvaggini, R.; Sordini, B.; Montedoro, G. Improvement of bioactive phenol content in virgin olive oil with an olive-vegetation water concentrate produced by membrane treatment. *Food Chem.* **2011**, *124*, 1308–1315.
- (117) Servili, M.; Selvaggini, R.; Esposto, S.; Taticchi, A.; Montedoro, G.; Morozzi, G. Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: agronomic and

- technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *J. Chromatogr., A* **2004**, *1054*, 113–127.
- (118) Valavanidis, A. Antioxidant and anticancer substances of olive oil and olive leaves and their contribution to human health. *Chemika Chrinika, Genike Ekdose* **2009**, *71*, 25–28.
- (119) El Sedef, N.; Karakaya, S. Olive tree (*Olea europaea*) leaves : potential beneficial effects on human healts. *Nutr. Rev.* **2009**, *67*, 632–638.
- (120) Kefalas, P. , Isolation of oleuropein from the leaves of olive tree, EP 1795201 A1 **2007**.
- (121) Nachman, L. Method for producing extract of olive leaves and extract produced thereby, WO/1999/038383 **1999**.
- (122) Pinnell, S. R.; Omar, M. M. Extraction of olive leaf and formulations containing the olive leaf extract, US7179841 **2003**.
- (123) Pizzichini, D.; Russo, Claudio Vitagliano, M.; Pizzichini, Massimo Romani, A.; IERI, F.; Pinelli, P.; Vognolini, P. Process for producing concentrated and refined actives from tissues and byproducts of *Olea europaea* with membrane technologies, EP2338500 (A1) **2011**.
- (124) Priego-Capote, F.; Ruiz-Jimenez, J.; Luque De Castro, M. Fast separation and determination of phenolic compounds by capillary electrophoresis-diode array detection.: Application to the characterisation of alperujo after ultrasound-assisted extraction. *J. Chromatogr., A* **2004**, *1045*, 239–246.
- (125) Savournin, C.; Baghdikian, B.; Elias, R.; Dargouth-Kesraoui, F.; Boukef, K.; Balansard, G. Rapid high-performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in *Olea europaea* leaves. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 618–21.
- (126) Ranalli, A.; Contento, S.; Lucera, L.; Di Febo, M.; Marchegiani, D.; Di Fonzo, V. Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves (*Olea europaea* L.). *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 434–40.
- (127) Takenaka, Y.; Tanahashi, T.; Shintaku, M.; Sakai, T.; Nagakura, N. Secoiridoid glucosides from *Fraxinus americana*. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 275–284.
- (128) Çalış, I.; Hosny, M.; Khalifa, T.; Nishibe, S. Secoiridoids from *Fraxinus angustifolia*. *Phytochemistry* **1993**, *33*, 1453–1456.
- (129) Damtoft, S.; Franzyk, H.; Jensen, S. R. Excelsioside, a secoiridoid glucoside from *Fraxinus excelsior*. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 4197–4201.
- (130) Tanahashi, T.; Shimada, A.; Nagakura, N.; Inoue, K.; Kuwajima, H.; Takaishi, K.; Chen, C.-C.; He, Z.-D.; Yang, C.-R. Isolation of oleayunnanoside from *Fraxinus insularis* and revision of its structure to insularoside-6 "-O- β -D-glucoside. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, *41*, 1649–1651.

- (131) Iossifova, T.; Vogler, B.; Kostova, I. Secoiridoid glucosides from fraxinus ornus bark. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1329–1332.
- (132) Hosny, M. Secoiridoids Glucosides from Fraxinus Oxycarba. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1569–1576.
- (133) Si, C.; Zhang, Y.; Zhu, Z.; Xu, J.; Kim, J.; Bae, Y. Isolation and structure elucidation of secoiridoid glucosides from Fraxinus rhynchophylla leaves. *Chem. Nat. Compd.* **2009**, *45*, 814–816.
- (134) Somanadhan, B.; Smitt, U. W.; George, V.; Pushpangadan, P.; Rajasekharan, S.; Duus, J. O.; Nyman, U.; Olsen, C. E.; Jaroszewski, J. W. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors from Jasminum azoricum and Jasminum grandiflorum. *Planta Med.* **1998**, *64*, 246–50.
- (135) Tanahashi, T.; Sakai, T.; Takenaka, Y.; Nagakura, N.; Chen, C.-C. Structure Elucidation of Two Secoiridoid Glucosides from Jasminum officinale L. var. grandiflorum (L.) KOBUSKI. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *7*, 1582–1586.
- (136) Tanahashi, T.; Takenaka, Y.; Nagakura, N. Two dimeric secoiridoid glucosides from Jasminum polyanthum. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 1341–1345.
- (137) Shen, Y.; Lin, S.; Chein, C. Jaspolytide, a secoiridoid glycoside from Jasminum polyanthum. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 1629–1631.
- (138) Inoue, K.; Nishioka, T.; Tanahashi, T.; Inouye, H. Three secoiridoid glucosides from Ligustrum japonicum. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2305–2311.
- (139) He, Z.-D.; Dong, H.; Hong-Xi, X.; Wen-Cai, Y.; Han-Dong, S.; Paul Pui-Hay, B. Secoiridoid constituents from the fruits of Ligustrum lucidum. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 327–330.
- (140) Konno, K.; Yasui, H.; Hirayama, C. Glycine protects against strong protein-denaturing activity of oleuropein, a phenolic compound in privet leaves. *J. Chem. Ecol.* **1998**, *24*, 735–751.
- (141) Mučaji, P.; Nagy, M.; Záhradníková, A.; Holková, I.; Bezáková, L.; Švajdlenka, E.; Liptaj, T.; Prónayová, N. Polar constituents of Ligustrum vulgare L. and their effect on lipoxygenase activity. *Chem. Pap.* **2011**, *65*, 367–372.
- (142) Romani, A.; Pinelli, P.; Mulinacci, N.; Vincieri, F. F.; Gravano, E.; Tattini, M. HPLC Analysis of Flavonoids and Secoiridoids in Leaves of Ligustrum vulgare L. (Oleaceae). *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 4091–4096.
- (143) Tsukamoto, H.; Hisada, S.; Nishibe, S.; Roux, D. G. Phenolic glucosides from Olea europaea subs. africana. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2839–2841.
- (144) Sugiyama, M.; Machida, K.; Matsuda, N.; Kikuchi, M. A secoiridoid glycoside from Osmanthus asiaticus. *Phytochemistry* **1993**, *34*, 1169–1170.

- (145) Benkrief, R.; Ranarivelo, Y.; Skaltsounis, A.; Tillequin, F.; Koch, M.; Pusset, J.; Sévenet, T. Monoterpene alkaloids, iridoids and phenylpropanoid glycosides from *Osmanthus austrocaledonica*. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 825–832.
- (146) Kubba, A.; Tillequin, F.; Koch, M.; Litaudon, M.; Deguin, B. Iridoids, lignan, and triterpenes from *Osmanthus cymosus*. *Biochem. Syst. Ecol.* **2005**, *33*, 305–307.
- (147) Kikuchi, M.; Machida, K.; Sakamoto, S. Secoiridoid Di-glycosides from *Osmanthus ilicifolius*. *Heterocycles* **2009**, *77*, 557.
- (148) Diaz, A. M.; Abad, M. J.; Fernandez, L.; Recuero, C.; Villaescusa, L.; Silvan, A. M.; Bermejo, P. In Vitro Anti-Inflammatory Activity of Iridoids and Triterpenoid Compounds Isolated from *Phillyrea latifolia* L. *Biol. Pharm. Bull.* **2000**, *23*, 1307–1313.
- (149) Kurkin, V. A.; Evstratova, R. I.; Zapesochneya, G. G.; Pimenova, M. E. Phenolic compounds of the bark of *Syringa amurensis*. *Chem. Nat. Compd.* **1992**, *28*, 511–512.
- (150) Bi, X.; Li, W.; Sasaki, T.; Li, Q.; Mitsuhashi, N.; Asada, Y.; Zhang, Q.; Koike, K. Secoiridoid glucosides and related compounds from *Syringa reticulata* and their antioxidant activities. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 6426–9.
- (151) Hee-Juhn, P.; Myung-Sun, L.; Kyung-Tae, L.; Il-Cheol, S.; Yong-Nam, H.; Ken-ichi, M. Studies on Constituents with Cytotoxic Activity from the Stem Bark of *Syringa velutina*. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1029–1031.
- (152) Kurkin, V. A.; Zapesochneya, G. G.; Grinenko, N. A. Iridoids of the bark of *Syringa vulgaris*. *Chem. Nat. Compd.* **1990**, *26*, 592–593.
- (153) Kikuchi, M.; Mano, N.; Uehara, Y.; Machida, K.; Kikuchi, M. Cytotoxic and EGFR tyrosine kinase inhibitory activities of aglycone derivatives obtained by enzymatic hydrolysis of oleoside-type secoiridoid glucosides, oleuropein and ligustroside. *J. Nat. Med.* **2011**, *65*, 237–40.
- (154) Kuwajima, H.; Uemura, T.; Takaishi, K.; Inoue, K.; Inouye, H. A secoiridoid glucoside from *Olea europaea*. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 1757–1759.
- (155) Wang, X.-F.; Li, C.; Shi, Y.-P.; Di, D.-L. Two new secoiridoid glycosides from the leaves of *Olea europaea* L. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2009**, *11*, 940–4.
- (156) Montedoro, G.; Servili, M.; Baldioli, M.; Miniati, E. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Initial characterization of the hydrolyzable fraction. *J. Agric. Food Chem.* **1992**, *40*, 1577–1580.
- (157) Guinda, A. Use of solid residue from the olive industry. *Grasas y Aceites* **2006**, *57*, 107–115.
- (158) Japón-Luján, R.; Luque-Rodríguez, J. M.; Luque de Castro, M. D. Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *385*, 753–9.

- (159) Japón-Luján, R.; Luque de Castro, M. D. Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1136*, 185–91.
- (160) Japon-Lujan, R.; Luque-Rodriguez, J. M.; Luque M. D., de C. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J. Chromatogr., A* **2006**, *1108*, 76–82.
- (161) Şahin, S.; Bilgin, M.; Dramur, M. U. Investigation of Oleuropein Content in Olive Leaf Extract Obtained by Supercritical Fluid Extraction and Soxhlet Methods. *Sep. Sci. Technol.* **2011**, *46*, 1829–1837.
- (162) Xynos, N.; Papaefstathiou, G.; Psychis, M.; Argyropoulou, A.; Aligiannis, N.; Skaltsounis, A.-L. Development of a green extraction procedure with super/subcritical fluids to produce extracts enriched in oleuropein from olive leaves. *J. Supercrit. Fluids* **2012**, *67*, 89–93.
- (163) Agalias, A.; Magiatis, P.; Skaltsounis, A.-L.; Mikros, E.; Tsaibopoulos, A.; Gikas, E.; Spanos, I.; Manios, T. A new process for the management of olive oil mill waste water and recovery of natural antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 2671–6.
- (164) Xiao, X.-B.; Lin, Y.; Xu, G.; Gong, X.; Gu, Y.; Tong, J.; Yang, J. Two New Cytotoxic Alkaloids from *Mappianthus iodoides* Hand.-Mazz. *Helv. Chim. Acta* **2011**, *94*, 1594–1599.
- (165) Machida, K.; Asano, J.; Kikuchi, M. Caeruleosides A and B, bis-iridoid glucosides from *Lonicera caerulea*. *Phytochemistry* **1995**, *39*, 111–114.
- (166) Kakuda, R.; Imai, M.; Yaoita, Y.; Machida, K.; Kikuchi, M. Secoiridoid glycosides from the flower buds of *Lonicera japonica*. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 879–882.
- (167) Jain, S.; Sinha, A.; Bhakuni, D. S. The biosynthesis of beta-carboline and quinolizidine alkaloids of *Alangium lamarckii*. *Phytochemistry* **2002**, *60*, 853–9.
- (168) Bhakuni, D. S.; Jain, S.; Chaturvedi, R. Biosynthesis of the ipecac beta-carboline alkaloid tubulosine. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1983**, 1949–1952.
- (169) Souzu, I.; Mitsunashi, H. Structures of iridoids from *Lonicera morrowii* A. Gray II. *Tet. Lett.* **1970**, *11*, 191–192.
- (170) Calis, I.; Sticher, O. Secoiridois glucosides from *Lonicera Periclymenum*. *Phytochemistry* **1984**, *23*, 2539–2540.
- (171) Kinast, G.; Tietze, L. Enzymatische Spaltung von Secologanin Ein Modell zur Biogenese der Indoloalkaloide. *Chem. Ber.* **1976**, *109*, 3640–3645.
- (172) Patthy-Lukats, a; Kocsis, a; Szabo, L.; Podanyi, B. Configurative correlation and conformational analysis of strictosidine and vincoside derivatives. *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 1492–9.

- (173) Tietze, L. F.; Henke, S.; Bärtels, C. Biomimetic transformations of the biogenetic key intermediate secologanin. *Tetrahedron* **1988**, *44*, 7145–7153.
- (174) Tietze, L. F.; Henke, S.; Remberg, G. Iridoids, XXI. Synthesis of [¹³C]Secologanin. *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, *1986*, 1413–1427.
- (175) Lacaille-Dubois, M. A.; Galle, K.; Wagner, H. Secoiridoids and xanthonenes from *Gentianella nitida*. *Planta Med.* **1996**, *62*, 365–8.
- (176) Zhu, K.-C.; Ma, C.-H.; Ye, G.; Fan, M.-S.; Huang, C.-G. Two new secoiridoid glycosides from *Tripterospermum chinense*. *Helv. Chim. Acta* **2007**, *90*, 291–296.
- (177) Uesato, S.; Takeda, Y.; Hashimoto, T.; Uobe, K.; Inouye, H.; Al., E. 245. Studies on Monoterpene Glucosides and Related Natural Products. Part 51. Absolute Structures of Hydrangenosides A, B, C, D, E, F, and G. Novel Type Secoiridoid Glucosides from Two Hydrangea Plants. *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 2111–2127.
- (178) Jensen, S. R.; Mikkelsen, C. B.; Nielsen, B. J. Iridoid mono- and di-glycosides in *Mentzelia*. *Phytochemistry* **1981**, *20*, 71–84.
- (179) Itoh, A.; Oya, N.; Kawaguchi, E.; Nishio, S.; Tanaka, Y.; Kawachi, E.; Akita, T.; Nishi, T.; Tanahashi, T. Secoiridoid Glucosides from *Strychnos spinosa*. *J. Nat. Prod.* **2005**, *68*, 1434–1436.
- (180) Itoh, A.; Fujii, K.; Tomatsu, S.; Takao, C.; Tanahashi, T.; Nagakura, N.; Chen, C.-C. Six Secoiridoid Glucosides from *Adina racemosa*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1212–1216.
- (181) Inouye, H.; Takeda, Y.; Nishimura, H.; Kanomi, A.; Okuda, T.; Puff, C. Chemotaxonomic studies of rubiaceae plants containing iridoid glycosides. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 2591–2598.
- (182) Rastrelli, L.; Caceres, a; Morales, C.; De Simone, F.; Aquino, R. Iridoids from *Lippia graveolens*. *Phytochemistry* **1998**, *49*, 1829–1832.
- (183) Kim, H. K.; Choi, Y. H.; Luijendijk, T. J. C.; Rocha, R. A. V.; Verpoorte, R. Comparison of extraction methods for secologanin and the quantitative analysis of secologanin from *Symphoricarpos albus* using ¹H-NMR. *Phytochem. Anal.* **2004**, *15*, 257–61.
- (184) Keawpradub, N.; Takayama, H.; Aimi, N.; Sakai, S.-I. Indole alkaloids from *Alstonia glaucescens*. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1745–1750.
- (185) Achenbach, H.; Benirschke, M.; Torrenegra, R. Alkaloids and other compounds from seeds of *tabernaemontana cymosa*. *Phytochemistry* **1997**, *45*, 325–336.
- (186) van Beek, T. A.; Lankhorst, P. P.; Verpoorte, R.; Baerheim Svendsen, A. Isolation of the secoiridoid-glucoside sweroside from *Tabernaemontana psorocarpa*. *Planta Med.* **1982**, *44*, 30–31.

- (187) Hamilton, R.; McLean, S. The conversion of sweroside to secologanin. *Can. J. Chem.* **1981**, *59*, 215.
- (188) Qian, Z.-M.; Li, H.-J.; Li, P.; Ren, M.-T.; Tang, D. Simultaneous Qualitation and Quantification of Thirteen Bioactive Compounds in Flos Lonicerae by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector and Mass Spectrometry. *Chem. Pharm. Bull.* **2007**, *55*, 1073–1076.
- (189) Song, W.; Li, S.; Wang, S.; Wu, Y.; Zi, J.; Gan, M.; Zhang, Y.; Liu, M.; Lin, S.; Yang, Y.; Shi, J. Pyridinium alkaloid-coupled secoiridoids from the flower buds of *Lonicera japonica*. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 922–925.
- (190) Kumar, S.; Sati, O. P.; Semwal, V. D.; Nautiyal, M.; Sati, S.; Takeda, Y. Iridoid glycosides from *Lonicera quinquelocularis*. *Phytochemistry* **2000**, *53*, 499–502.
- (191) Itoh, A.; Tanahashi, T.; Tabata, M.; Shikata, M.; Kakite, M.; Nagai, M.; Nagakura, N. Tetrahydroisoquinoline-monoterpene and iridoid glycosides from *Alangium lamarckii*. *Phytochemistry* **2001**, *56*, 623–630.
- (192) Tomita, H.; Mouri, Y. An iridoid glucoside from *Dipsacus asperoides*. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 239–240.
- (193) Guelcemal, D.; Alankus-Caliskan, O.; Karayildirim, T.; Masullo, M.; Piacente, S.; Senol, S. G.; Bedir, E. Monoterpenoid glucoindole alkaloids and iridoids from *Pterocephalus pinardii*. *Magn. Reson. Chem.* **2010**, *48*, 239–243.
- (194) Linde, H. H. A.; Ragab, M. S. Stereochemie und Konformation des Swerosids. *Helv. Chim. Acta* **1967**, *50*, 991–993.
- (195) Shiobara, Y.; Kato, K.; Ueda, Y.; Taniue, K.; Syoha, E.; Al., E. Secoiridoid glucosides from *Chelonanthus chelonoides*. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1649–1652.
- (196) Wu, M.; Wu, P.; Liu, M.; Xie, H.; Jiang, Y.; Wei, X. Iridoids from *Gentiana loureirii*. *Phytochemistry* **2009**, *70*, 746–750.
- (197) Takeda, Y.; Masuda, T.; Hond, G.; Takaishi, Y.; Ito, M.; Ashurmetov, O. A.; Khodzhimatov, O. K.; Otsuka, H. Secoiridoid Glycosides from *Gentiana olivieri*. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 1338–1340.
- (198) Ma, W.-G.; Fuzzati, N.; Wolfender, J.-L.; Hostettmann, K.; Yang, C.-R. 150. Rhodenthoside A, a New Type of Acylated Secoiridoid Glycoside from *Gentiana rhodantha*. *Helv. Chim. Acta* **1994**, *77*, 1660–1671.
- (199) Tan, R. X.; Kong, L. D. Secoiridoids from *Gentiana siphonantha*. *Phytochemistry* **1997**, *46*, 1035–1038.
- (200) Tan, R. X.; Kong, L. D.; Wei, H. X. Secoiridoid glycosides and an antifungal anthranilate derivative from *Gentiana tibetica*. *Phytochemistry* **1998**, *47*, 1223–1226.

- (201) Jiang, R.-W.; Wong, K.-L.; Chan, Y.-M.; Xu, H.-X.; But, P. P.-H.; Shaw, P.-C. Isolation of iridoid and secoiridoid glycosides and comparative study on *Radix gentianae* and related adulterants by HPLC analysis. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2674–2680.
- (202) Sun, Y.-W.; Yu, P.-Z.; Sun, Z.-H. A new xanthone from *Halenia elliptica* D. Don. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2011**, *13*, 88–92.
- (203) Chakravarty, A. K.; Mukhopadhyay, S.; Moitra, S. K.; Das, B. (-)Syringaresinol, a hepatoprotective agent and other constituents from *Swertia chirata*. *Indian J. Chem., Sect. B: Org. Chem. Incl. Med. Chem.* **1994**, *33*, 405–408.
- (204) Wang, Z.; Ma, C.; Tang, S.; Hattori, M.; Xiao, H.; Kakiuchi, N.; Kida, H. Qualitative and quantitative analysis of *Swertia* herbs by high performance liquid chromatography-diode array detector-mass spectrometry (HPLC-DAD-MS). *Chem. Pharm. Bull.* **2008**, *56*, 485–490.
- (205) Wang, S.-S.; Zhao, W.-J.; Han, X.-W.; Liang, X.-M. Two New Iridoid Glycosides from the Tibetan Folk Medicine *Swertia franchetiana*. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 674–676.
- (206) Hase, K.; Li, J.; Basnet, P.; Xiong, Q.; Takamura, S.; al., et Hepatoprotective Principles of *Swertia japonica* MAKINO on D-Galactosamine/Lipopolysaccharide-Induced Liver Injury in Mice. *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, *45*, 1823–1827.
- (207) Zhou, Y.; Di, Y.-T.; Gesang, S.; Peng, S.-L.; Ding, L.-S. Secoiridoid glycosides from *Swertia mileensis*. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 94–102.
- (208) Li, J.-C.; Feng, L.; Sun, B.-H.; Ikeda, T.; Nohara, T. Hepatoprotective Activity of the Constituents in *Swertia pseudochinensis*. *Biol. Pharm. Bull.* **2005**, *28*, 534–537.
- (209) Kanamori, H.; Sakamoto, I.; Mizuta, M.; Tanaka, O. Studies on the Mutagenicity of *Swertiae Herba*. III. Components Which Become Mutagenic on Nitrite Treatment. *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 1663–1666.
- (210) Otsuka, H.; Kijima, K. An Iridoid Gentiobioside, a Benzophenone Glucoside and Acylated Flavone C-Glycosides from *Tripterospermum japonicum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 699–702.
- (211) Mueller, A. A.; Kufer, J. K.; Dietl, K. G.; Reiter, S. A.; Grau, J.; Weigend, M. Iridoid glucosides - chemotaxonomic markers in Loasoideae. *Phytochemistry* **1999**, *52*, 67–78.
- (212) Rodriguez, V.; Schripsema, J.; Jensen, S. R. Iridoid glycosides from *Eucnide bartonioides*. *Phytochemistry* **1997**, *45*, 1427–1430.
- (213) Onocha, P. A.; Okorie, D. A.; Connolly, J. D.; Roycroft, D. S. Monoterpene diol, iridoid glucoside and dibenzo- α -pyrone from *anthocleista djalonensis*. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1183–1190.

- (214) Suciati; Garson, M. J.; Lambert, L. K.; Ross, B. P.; Deseo, M. A. Phytochemical study of *Fagraea* spp. Uncover a new terpene alkaloid with anti-inflammatory properties. *Aust. J. Chem.* **2011**, *64*, 489–494.
- (215) Cambie, R. C.; Lal, A. R.; Rickard, C. E. F.; Tanaka, N. Chemistry of Fijian Plants. V. Constituents of *Fagraea gracilipes* A. Gray. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 1857–1861.
- (216) Li, X.-C.; ElSohly, H. N.; Walker, L. A.; Clark, A. M. Phenolic Glycosides from *Potalia amara*. *Planta Med.* **2005**, *71*, 977–979.
- (217) Itoh, A.; Tanaka, Y.; Nagakura, N.; Akita, T.; Nishi, T.; Tanahashi, T. Phenolic and iridoid glycosides from *Strychnos axillaris*. *Phytochemistry* **2008**, *69*, 1208–1214.
- (218) Lendl, A.; Werner, I.; Glasl, S.; Kletter, C.; Mucaji, P.; Presser, A.; Reznicek, G.; Jurenitsch, J.; Taylor, D. W. Phenolic and terpenoid compounds from *Chione venosa* (SW.) URBAN var. *venosa* (Bois Bande). *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2381–2387.
- (219) Takayama, H.; Ishikawa, H.; Kitajima, M.; Aimi, N.; Aji, B. M. A New 9-Methoxyyohimbine-Type Indole Alkaloid from *Mitragyna africana*. *Chem. Pharm. Bull.* **2004**, *52*, 359–361.
- (220) Itoh, A.; Tanahashi, T.; Nagakura, N.; Nishi, T. Two chromone-secoiridoid glycosides and three indole alkaloid glycosides from *Neonauclea sessilifolia*. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 359–370.
- (221) Kitajima, M.; Fujii, N.; Yoshino, F.; Sudo, H.; Saito, K.; Aimi, N.; Takayama, H. Camptothecins and Two New Monoterpene Glucosides from *Ophiorrhiza liukuensis*. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, *53*, 1355–1358.
- (222) Chang, F.-R.; Lee, Y.-H.; Yang, Y.-L.; Hsieh, P.-W.; Khalil, A. T.; Chen, C.-Y.; Wu, Y.-C. Secoiridoid Glycoside and Alkaloid Constituents of *Hydrangea chinensis*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1245–1248.
- (223) Mustafa, A.; Turner, C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Anal. Chim. Acta* **2011**, *703*, 8–18.
- (224) Hawthorne, S. B.; Miller, D. J. Direct comparison of soxhlet and low-temperature and high-temperature supercritical CO₂ extraction efficiencies of organics from environmental solids. *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4005–4012.
- (225) Clifford, A. A. Separations Using Superheated Water. In *Green Separation Processes: Fundamentals and Applications*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2006.
- (226) Teo, C. C.; Tan, S. N.; Yong, J. W. H.; Hew, C. S.; Ong, E. S. Pressurized hot water extraction (PHWE). *J. Chromatogr., A* **2010**, *1217*, 2484–94.
- (227) Murayama, W.; Kobayashi, T.; Kosuge, Y.; Yano, H.; Nunogaki, Y.; Nunogaki, K. A new centrifugal counter-current chromatograph and its application. *J. Chromatogr., A* **1982**, *239*, 643–649.

- (228) Foucault, A. P. *Centrifugal Partition Chromatography : Chromatographic Science Series Volume 68*; Marcel Dekker Inc.: New-York, 1994.
- (229) Renault, J.; Nuzillard, J.; Intes, O.; Maciuk, A. Countercurrent chromatography, the support-free liquid stationary phase. In *Compr. Anal. Chem. vol. 38*; Berthod, A., Ed.; Elsevier: Amsterdam, 2002; pp. 49–83.
- (230) Berthod, A.; Hassoun, M.; Ruiz-Angel, M. J. Alkane effect in the Arizona liquid systems used in countercurrent chromatography. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *383*, 327–40.
- (231) Ignatova, S.; Sumner, N.; Colclough, N.; Sutherland, I. Gradient elution in counter-current chromatography: a new layout for an old path. *J. Chromatogr., A* **2011**, *1218*, 6053–60.
- (232) Pauli, G. F.; Pro, S. M.; Friesen, J. B. Countercurrent separation of natural products. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1489–508.
- (233) Foucault, A.; Chevolot, L. Counter-current chromatography: instrumentation, solvent selection and some recent applications to natural product purification. *J. Chromatogr., A* **1998**, *808*, 3–22.
- (234) Yoon, K. D.; Chin, Y.-W.; Kim, J. Centrifugal partition chromatography: application to natural products in 1994–2009. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2010**, *33*, 1208–1254.
- (235) Shen, Y.-C.; Hsieh, P.-W. Four New Secoiridoid Glucosides from *Jasminum urophyllum*. *J. Nat. Prod.* **1997**, *60*, 453–457.
- (236) Leitao, G. G.; de Souza, P. A.; Moraes, A. A.; Brown, L. Step Gradient CCC Separation of Phenylpropanoid and Iridoid Glycosides from Roots of *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl. *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2005**, *28*, 2053–2060.
- (237) Kim, C. Y.; Kim, J. Preparative isolation and purification of geniposide from gardenia fruits by centrifugal partition chromatography. *Phytochem. Anal.* **2007**, *18*, 115–117.
- (238) Chen, Z.; Wu, J.; Shen, W.; Liu, P.; Cao, Y.; Lu, Y. Counter-current chromatographic method for preparative scale isolation of picrosides from traditional Chinese medicine *Picrorhiza scrophulariiflora*. *J. Sep. Sci.* **2011**, 1910–1916.
- (239) Hermanns-Lokkerbol, A.; Verpoorte, R. Purification of Secologanin from *Lonicera tatarica* Extracts Using RLCC. *Planta Med.* **1987**, *6*, 546–548.
- (240) Sutherland, I. A recent progress on the industrial scale-up of counter-current chromatography. *J. Chromatogr., A* **2007**, *1151*, 6–13.
- (241) Yuan, Y.; Wang, B.; Chen, L.; Luo, H.; Fisher, D.; Sutherland, I. A.; Wei, Y. How to realize the linear scale-up process for rapid purification using high-performance counter-current chromatography. *J. Chromatogr., A* **2008**, *1194*, 192–8.

- (242) Mpondo, E. M.; Garcia, J. Iridoids from *Gentiana verna*. *Phytochemistry* **1989**, *28*, 2503–2504.
- (243) Calis, I.; Lahloub, M. F.; Sticher, O. Loganin, loganic acid and periclymenoside, a new biosidic ester iridoid glucoside from *Lonicera periclymenum* L. (Caprifoliaceae). *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 160–165.
- (244) Wazir, V.; Maurya, R.; Kapil, R. S. Cordioside, a clerodane furano diterpene glucoside from *Tinospora cordifolia*. *Phytochemistry* **1995**, *38*, 447–449.
- (245) Battersby, A. R.; Burnett, A. R.; Parsons, P. G. Preparation and isolation of deoxyloganin: its role as precursor of loganin and the indole alkaloids. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1970**, 826.
- (246) Quintero, C.; Bowers, M. D. Plant induced defenses depend more on plant age than previous history of damage: implications for plant-herbivore interactions. *J. Chem. Ecol.* **2011**, *37*, 992–1001.
- (247) Damtoft, S.; Franzyk, H. Fontanesioside and 5-hydroxysecologanol from *Fontanesia phillyreoides*. *Phytochemistry* **1994**, *33*, 705–711.
- (248) Cachet, X.; Deguin, B.; Tillequin, F.; Rolland, Y.; Koch, M. Synthesis of Functionalized Bicyclo hexanes from Aucubin: An Access to Fused Aminocyclopentitols. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2812–2822.
- (249) Ladenburg, A. Ueber die Silicoheptylreihe. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1871**, *4*, 901–903.
- (250) Sommer, L. H.; Pietrusza, E. W.; Whitmore, F. C. Properties of the Silicon-Hydroxyl Bond in Trialkylsilanols. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 2282–2284.
- (251) Tatlock, W. S.; Rochow, E. G. The Preparation and Hydrolysis of some Organosilanolates. *J. Org. Chem* **1952**, *17*, 1555–1563.
- (252) Hyde, J. F.; Johannson, O. K.; Daudt, W. H.; Fleming, R. F.; Laudenslager, H. B.; Roche, M. P. Sodium and Potassium Salts of Triorganosilanols. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 5615–5618.
- (253) Patai, S.; Rappoport, Z. Chap. 12 : Acidity, basicity and complex formation of organosilicon compounds. In *The chemistry of organosilicon compound Part I*; John Wiley & Sons: Chichester, 1989; pp. 809–838.
- (254) Blaschette, A.; Bressel, B. Über peroxoverbindungen. 3.mitt. Zur acidität von triorganosilylhydroperoxiden [1]. *Chem. Lett.* **1968**, *4*, 175–178.
- (255) Minkwitz, R.; Schneider, S. Die Tieftemperaturkristallstruktur von Trimethylsilanol. *Zeitschrift für Naturforschung* **1998**, *53*, 426–429.
- (256) Landais, Y. Chap. 4 Le silicium et le stéréocontrôle en synthèse organique. In *Methodes et technique de la chimie organique*; Astruc, D., Ed.; Preses universitaires de Grenoble, 1999; pp. 147–144.

- (257) Laganis, E. D.; Chenard, B. L. Metal Silanolates : Organic Soluble Equivalents for O₂-. *Tet. Lett.* **1984**, 25, 5831–5834.
- (258) Rachon, J.; Goedken, V.; Walborsky, H. M. Rearrangement of a bicyclic [2.2.2] system to a bicyclic [3.2.1] system. Nonclassical ions. *J. Org. Chem* **1989**, 54, 1006–1012.
- (259) Jones, G. B.; Moody, C. J.; Padwa, A.; Kassir, J. M. Inter- and intra-molecular reactions of indol-2-yl carbenes and related species. Preparation of 1,1a,2,8b-tetrahydroazirino[2',3': 3,4]pyrrolo[1,2-a]indoles. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 1721.
- (260) Barrett, A. G. M.; Kasdorf, K. Total Synthesis of the Pentacyclopropane Antifungal Agent FR-900848. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 11030–11037.
- (261) Chidambaram, R.; Kant, J.; Zhu, J.; Lajeunesse, J.; Sirard, P.; Ermann, P.; Schierling, P.; Lee, P.; Kronenthal, D. A Practical Synthesis of the RAR γ Agonist, BMS-270394. *Org. Process Res. Dev.* **2002**, 6, 632–636.
- (262) Minta, E.; Boutonnet, C.; Boutard, N.; Martinez, J.; Rolland, V. Easy saponification by metal silanolates: application in SPPS and in (S)-5-hydroxynorvaline preparation. *Tet. Lett.* **2005**, 46, 1795–1797.
- (263) Lovric, M.; Cepanec, I.; Litvic, M.; Bartolincic, A.; Vinkovic, V. Scope and Limitations of Sodium and Potassium Trimethylsilanolate as Reagents for Conversion of Esters to Carboxylic Acids. *Croat. Chem. Acta* **2007**, 80, 109–115.
- (264) Boisse, T.; Rigo, B.; Millet, R.; Hénichart, J.-P. From dicarbonyllallene to 1-aryl-3,6-dimethyl-4-aminoaryl-2-pyridones: a one-pot versatile and uncatalyzed synthesis. *Tetrahedron* **2007**, 63, 10511–10520.
- (265) Castadi, G.; Rasparini, M.; Carcone, L.; Romano, B. Novel process for the preparation of telmisartan **2009**.
- (266) Douglas, J. E.; Campbell, G.; Wigfield, D. C. Studies on the B_{AL} 2 mechanism for ester hydrolysis. *Can. J. Chem.* **1993**, 71, 1841–1844.
- (267) Yagupolskii, Y. L.; Bezdudnyi, A. V.; Yagupolskii, L. M. N-(Trifluoromethylsulfonyl)trifluoromethanesulfinimidic acid and its salts. *J. Fluorine Chem.* **2002**, 115, 129–132.
- (268) Dziemidowicz, J.; Witt, D.; Sliwka-Kaszynska, M.; Rachon, J. Potassium Trimethylsilanolate-Mediated Conversion of Dialkyl Phosphonates to Their Anhydrous Potassium Monoalkyl Phosphonates Under Mild, Non-Aqueous Conditions. *Synthesis* **2005**, 2005, 569–574.
- (269) Coe, D. M.; Perciaccante, R.; Procopiou, P. A. Potassium trimethylsilanolate induced cleavage of 1,3-oxazolidin-2- and 5-ones, and application to the synthesis of (R)-salmeterol. *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 1106–1111.

- (270) Krapcho, A. P.; Waterhouse, D. Sodium Trimethyl Silanoate. A Hydroxyl Synthone for Fluoride S_NAr Type Displacements from Anthracene-9,10-diones, Benz[*g*]isoquinoline-5–10-diones and Nitrobenzenes. *Synth. Commun.* **1998**, *28*, 3415–3422.
- (271) Andrews, M. D.; Green, M. P.; Allerton, C. M. N.; Batchelor, D. V.; Blagg, J.; Brown, A. D.; Gordon, D. W.; McMurray, G.; Millns, D. J.; Nichols, C. L.; Watson, L. Design and synthesis of piperazinympyrimidinones as novel selective 5-HT(2C) agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 5346–50.
- (272) Barrett, A. G. M.; Lebold, S. A. (Phenylthio)nitromethane in the total synthesis of polyoxin C. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 3853–3857.
- (273) Curtius, T. Ueber Stickstoffwasserstoffsäure (Azoimid) N₃H. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 3023–3033.
- (274) Ma, B.; Lee, W.-C. A modified Curtius reaction: an efficient and simple method for direct isolation of free amine. *Tet. Lett.* **2010**, *51*, 385–386.
- (275) Merchant, K. J. Potassium trimethylsilanolate mediated hydrolysis of nitriles to primary amides. *Tet. Lett.* **2000**, *41*, 3747–3749.
- (276) Lee, H.-S.; Kim, S.-H.; Kim, J.-N. Facile One-Pot Synthesis of Cinnamamides from Aromatic Aldehydes and Acetonitrile with Me₃SiOK. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, *32*, 1748–1750.
- (277) Brunner, M.; Reinhard, R.; Rahm, R.; Maas, G. Synthesis of α -Alkynylamines by Trimethylsilanolate-Induced α -Deprotonation of Propyne Iminium Salts. *Synlett* **1994**, *1994*, 627–628.
- (278) Baker-Glenn, C. a. G.; Barrett, A. G. M.; Gray, A. a.; Procopiou, P. a.; Ruston, M. Alkene synthesis: elimination of arenesulfinic acid from alkyl aryl sulfones using potassium trimethylsilanolate as base. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 7427–7430.
- (279) Denmark, S. E.; Regens, C. S. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of organosilanols and their salts: practical alternatives to boron- and tin-based methods. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1486–99.
- (280) Denmark, S. E.; Sweis, R. F. Fluoride-Free Cross-Coupling of Organosilanols. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6439–6440.
- (281) Denmark, S. E.; Tymonko, S. a Cross-coupling of alkynylsilanols with aryl halides promoted by potassium trimethylsilanolate. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9151–4.
- (282) Dillon, K. .; Harrison, M. .; Rossotti, F. J. . A hydrogen NMR study of some carboxylic acids and their anions. *J. Magn. Reson.* **1980**, *39*, 499–509.
- (283) Pretsch, E.; Bühlmann, P.; Badertscher, M. *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*; 4th ed.; Springer: Berlin-Heidelberg, 2009.

- (284) Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J. Org. Chem* **1997**, *62*, 7512–7515.
- (285) Olmstead, W. N.; Margolin, Z.; Bordwell, F. G. Acidities of water and simple alcohols in dimethyl sulfoxide solution. *J. Org. Chem* **1980**, *45*, 3295–3299.
- (286) Ciolino, L. A.; Mesmer, M. Z.; Satzger, R. D.; Machal, A. C.; McCauley, H. A.; Mohrhaus, A. S. The chemical interconversion of GHB and GBL: forensic issues and implications. *J. Forensic Sci.* **2001**, *46*, 1315–23.
- (287) Bordwell, F. G.; Algrim, D. Nitrogen acids. 1. Carboxamides and sulfonamides. *J. Org. Chem* **1976**, *41*, 2507–2508.
- (288) Denmark, S. E.; Baird, J. D. Palladium-catalyzed cross-coupling reactions of silanolates: a paradigm shift in silicon-based cross-coupling reactions. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 4954–63.
- (289) Arnett, E. M.; Harrelson, J. A. Ion pairing and reactivity of enolate anions. 7. A spectacular example of the importance of rotational barriers: the ionization of Meldrum's acid. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 809–812.
- (290) Matthews, W. S.; Bares, J. E.; Bartmess, J. E.; Bordwell, F. G.; Cornforth, F. J.; Drucker, G. E.; Margolin, Z.; McCallum, R. J.; McCollum, G. J.; Vanier, N. R. Equilibrium acidities of carbon acids. VI. Establishment of an absolute scale of acidities in dimethyl sulfoxide solution. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 7006–7014.
- (291) Brückner, R. *Mécanismes réactionnels en chimie organique. Méthodes synthétiques, stéréochimie et réactions modernes*; De Boeck Université, 1999; p. 51.
- (292) Gaylord Chemical Company, L. L. C. Drying of dimethyl sulfoxide. *DMSO Product Information Bulletin* **207AD**, 10B, 1–2.
- (293) Schmidt, O. T. *Methods in carbohydrate chemistry*; Vol. II.; 1963; p. 318.
- (294) de Belder, A. N. Cyclic Acetals of the Aldoses and Aldosides. *Adv. Carbohydr. Chem.* **1965**.
- (295) Seyferth, D.; Dow, A. W.; Menzel, H.; Flood, T. C. Trimethylsilyldiazomethane and trimethylsilylcarbene. *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1080–1082.
- (296) Seyferth, D.; Menzel, H.; Dow, A. W.; Flood, T. C. Trimethylsilyl-substituted diazoalkanes : I. Trimethylsilyldiazomethane. *J. Organomet. Chem.* **1972**, *44*, 279–290.
- (297) Hashimoto, N.; Aoyama, T.; Shioiri, T. New Methods and Reagents in Organic Synthesis. 14. A Simple Efficient Preparation of Methyl Esters with Trimethylsilyldiazomethane (TMSCHN₂) and Its Application to Gas Chromatographic Analysis of Fatty Acids. *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 1475–1478.
- (298) Shioiri, T.; Aoyama, T.; Hashimoto, N. Novel synthesis of carboxylate, JP57130925 **1982**.

- (299) Lemus, C. Réactivité du triméthylsilyldiazométhane vis-à-vis de carbonyles : application aux iridoïdes et accès à de nouveaux squelettes et synthons Etude chimique de *Chimarrhis cymosa*, Rubiaceae endémique des Petites Antilles, Université Paris Descartes, 2011, p. 73.
- (300) Czernecki, S.; Georgoulis, C.; Stevens, C. L.; Vijayakumaran, K. Pyridium dichromate oxidation. Modification enhancing its synthetic utility. *Tet. Lett.* **1985**, *26*, 1699–1702.
- (301) Itoh, A.; Fujii, K.; Tomatsu, S.; Takao, C.; Tanahashi, T.; Nagakura, N.; Chen, C.-C. Six secoiridoid glucosides from *Adina racemosa*. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1212–6.
- (302) Kawai, H.; Kuroyanagi, M.; Ueno, A. Iridoid Glucosides from *Lonicera japonica* THUNB. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, *36*, 3664–3666.
- (303) Recio-Iglesias, M.-C.; Marston, A.; Hostettmann, K. Xanthones and secoiridoid glucosides of *Halenia campanulata*. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 1387–1389.
- (304) Machida, K.; Sasaki, H.; Iijima, T.; Kikuchi, M. Studies on the constituents of *Lonicera* species. XVII. New iridoid glycosides of the stems and leaves of *Lonicera japonica* THUNB. *Chem. Pharm. Bull.* **2002**, *50*, 1041–4.
- (305) Shiobara, Y.; Kato, K.; Ueda, Y.; Taniue, K.; Syoha, E.; Nishimoto, N.; de Oliveira, F.; Akisue, G.; Kubota Akisue, M.; Hashimoto, G. Secoiridoid glucosides from *Chelonanthus chelonoides*. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 1649–1652.
- (306) Ohashi, K.; Tanikawa, T.; Okumura, Y.; Kawazoe, K.; Tatara, N.; Minato, M.; Shibuya, H.; Kitagawa, I. Indonesian medicinal plants X) Chemical structures of four new triterpene-glycosides, gongganosides D, E, F and G, and two secoiridoid-glucosides from the bark of *Bhesa paniculata* (Celastraceae). *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, *42*, 1791–1797.
- (307) Dess, D. B.; Martin, J. C. A useful 12-I-5 triacetoxypentacyclohexene (the Dess-Martin periodinane) for the selective oxidation of primary or secondary alcohols and a variety of related 12-I-5 species. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7277–7287.
- (308) Zakharkin, L. I.; Khorlina, I. M. Reduction of esters of carboxylic acids into aldehydes with diisobutylaluminum hydride. *Tet. Lett.* **1962**, *3*, 619–620.
- (309) Webb, D.; Jamison, T. F. Diisobutylaluminum Hydride Reductions Revitalized: A Fast, Robust, and Selective Continuous Flow System for Aldehyde Synthesis. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 568–571.
- (310) Schlenk, D.; Gerwick, W. H. Dilophic acid, a diterpenoid from the tropical brown seaweed *Dilophus guineensis*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1081–1084.
- (311) Lane, C. F.; Myatt, H. L.; Daniels, J.; Hopps, H. B. Organic synthesis using borane-methyl sulfide. II. Reduction of aromatic carboxylic acids in the presence of trimethyl borate. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 3052–3054.

- (312) Pinar, M.; Hanaoka, M.; Hesse, M.; Schmid, H. Ueber die Struktur eines neuartigen Indolalkaloids, des Talbotins. *Helv. Chim. Acta* **1971**, *54*, 15–43.
- (313) Jacobsen, E. N.; Zhang, W.; Muci, A. R.; Ecker, J. R.; Deng, L. Highly enantioselective epoxidation catalysts derived from 1,2-diaminocyclohexane. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 7063–7064.
- (314) Katsuki, T. Some Recent Advances in Metallosalen Chemistry. *Synlett* **2003**, 0281–0297.
- (315) Brandes, B. D.; Jacobsen, E. N. Highly Enantioselective, Catalytic Epoxidation of Trisubstituted Olefins. *J. Org. Chem* **1994**, *59*, 4378–4380.
- (316) Vanderah, D.; Steudler, P.; Ciereszko, L.; Schmitz, F.; Ekstrand, J.; Van Der Helm, D. Marine natural products. Xenicin: a diterpenoid possessing a nine-membered ring from the soft coral, *Xenia elongata*. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5780–5784.
- (317) Kashman, Y.; Groweiss, A. Xeniolide-A and xeniolide-B, two new diterpenoids from the soft-coral *Xenia macrospiculata*. *Tet. Lett.* **1978**, *19*, 4833–4836.
- (318) Fattorusso, E.; Romano, A.; Taglialatela-Scafati, O.; Achmad, M. J.; Bavestrello, G.; Cerrano, C. Xenimanadins A-D, a family of xenicane diterpenoids from the Indonesian soft coral *Xenia* sp. *Tetrahedron* **2008**, *64*, 3141–3146.
- (319) Kashman, Y.; Groweiss, A. New diterpenoids from the soft corals *Xenia macrospiculata* and *Xenia obscuronata*. *J. Org. Chem* **1980**, *45*, 3814–3824.
- (320) Iwagawa, T.; Amano, Y.; Hase, T.; Shiro, M. New *Xenia* Diterpenoids from a Soft Coral, *Xenia* Species. *Chem. Lett.* **1995**, 695–696.
- (321) Iwagawa, T.; Masuda, T.; Okamura, H.; Nakatani, M. New *xenia* diterpenoids from a *Xenia* species of a soft coral. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 13121–13128.
- (322) Groweiss, A.; Kashman, Y. Xeniculin, xeniaphyllenol and xeniaphyllenol oxide, new diterpenoids from the soft-coral *Xenia macrospiculata*. *Tet. Lett.* **1978**, *19*, 2205–2208.
- (323) Lelong, H.; Ahond, A.; Chiaroni, A.; Poupat, C.; Riche, C.; Potier, P.; Pusset, J.; Pusset, M.; Laboute, P.; Menou, J. L. Invertébrés Marins du Lagon Néo-Calédonien, VIII. Métabolites Terpéniques de *Xenia membranacea*. *J. Nat. Prod.* **1987**, *50*, 203–210.
- (324) Almourabit, A.; Ahond, A.; Chiaroni, A.; Poupat, C.; Riche, C.; Potier, P.; Laboute, P.; Menou, J. Invertébrés Marins du Lagon Neo-Caledonien, IX: Havannachlorhydrines, Nouveaux Métabolites de *Xenia membranacea*: Etude Structural et Configuration Absolue. *J. Nat. Prod.* **1988**, *51*, 282.
- (325) Almourabit, A.; Gillet, B.; Abond, A.; Beloeil, J.-C.; Poupat, C.; Potier, P. Invertébrés Marins Du lagon Néo-Calédonien, XI. Les Desoxyhavannahines, Nouveaux Métabolites de *Xenia membranaces*. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 1080–1087.

- (326) Almourabit, A.; Ahond, A.; Poupat, C.; Potier, P. Invertebres marins du lagon neo-caledonien, xii. Isolement et etude structurale de nouveaux diterpenes extraits de l'alcyonaire xenia membranacea. *J. Nat. Prod.* **1990**, *53*, 894–908.
- (327) König, G. M.; Coll, J. C.; Bowden, B. F.; Gulbis, J. M.; MacKay, M. F.; Labarre, S. C.; Laurent, D. The Structure Determination of a Xenicane Diterpene from *Xenia garciae*. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 294–299.
- (328) Cheng, Y.; Jang, J.; Khalil, A. T.; Kuo, Y.; Shen, Y. Xenicane-type diterpenes with cytotoxicity from *Xenia florida*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 675–8.
- (329) Shen, Y.-C.; Lin, Y.-C.; Ahmed, A. F.; Kuo, Y.-H. New xenicane diterpenoids from *Xenia florida*. *Tet. Lett.* **2005**, *46*, 4793–4796.
- (330) Iwagawa, T.; Nakamura, K.; Hirose, T.; Okamura, H.; Nakatani, M. New Xenicane Diterpenes Isolated from the Acetone Extract of the Soft Coral *Xenia florida* 1. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 468–472.
- (331) Duh, C.-Y.; El-Gamal, A. A. H.; Chiang, C.-Y.; Chu, C.-J.; Wang, S.-K.; Dai, C.-F. New cytotoxic *Xenia* diterpenoids from the Formosan soft coral *Xenia umbellata*. *J. Nat. Prod.* **2002**, *65*, 1882–1885.
- (332) El-Gamal, A. a H.; Wang, S.-K.; Duh, C.-Y. Cytotoxic xenia diterpenoids from the soft coral *Xenia umbellata*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 338–41.
- (333) Bishara, A.; Rudi, A.; Goldberg, I.; Benayahu, Y.; Kashman, Y. Novaxenicins A–D and xeniolides I–K, seven new diterpenes from the soft coral *Xenia novaebritanniae*. *Tetrahedron* **2006**, *62*, 12092–12097.
- (334) Janairo, J. R. O.; Janairo, G. C.; Ragasa, C. Y.; Bowden, B. F. New xenicanes from *Xenia viridis*. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 1067–1072.
- (335) Coval, S.; Scheuer, P.; Matsumoto, G.; Clardy, J. Two new xenicin diterpenoids from the octocoral *anthelia edmondsoni*. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 3823–3828.
- (336) Green, D.; Carmely, S.; Benayahu, Y.; Kashman, Y. Antheliolide A & B: two new C24-acetoacetylated diterpenoids of the soft coral *Anthelia Glauca*. *Tet. Lett.* **1988**, *29*, 1605–1608.
- (337) Rudi, A.; Ketzinel, S.; Goldberg, I.; Stein, Z.; Kashman, Y.; Benayahu, Y.; Schleyer, M. Antheliatin and zahavins A and B, three new cytotoxic xenicane diterpenes from two soft corals. *J. Nat. Prod.* **1995**, *58*, 1581–1586.
- (338) Duh, C.-Y.; Li, C.; Wang, S.-K.; Dai, C.-F. Diterpenoids, norditerpenoids, and secosteroids from the Formosan soft coral *Cespitularia hypotentaculata*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1188–92.
- (339) Bowden, B. F.; Cusack, B. J.; Dangel, A. 3-Epi-9-deacetoxynenicin from the Soft Coral *Asterospicularia laurae*. (Alcyonacea). *Mar. Drugs* **2003**, *1*, 18–26.

- (340) Lin, Y.-C.; Abd El-Razek, M. H.; Hwang, T.-L.; Chiang, M. Y.; Kuo, Y.-H.; Dai, C.-F.; Shen, Y. Asterolaurins A-F, xenicane diterpenoids from the Taiwanese soft coral *Asterospicularia laurae*. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1911–6.
- (341) Lin, Y. S.; Fazary, A. E.; Chen, C.; Kuo, Y. H.; Shen, Y. C. Asterolaurins G – J, New Xenicane Diterpenoids from the Taiwanese Soft Coral *Asterospicularia laurae*. *Helv. Chim. Acta* **2011**, *94*, 273–281.
- (342) Lin, Y.; Eid, A.; Chen, C.; Kuo, Y. Bioactive Xenicane Diterpenoids from the Taiwanese Soft Coral *Asterospicularia laurae*. *Chem. Ber.* **2011**, *8*, 1310–1317.
- (343) Hooper, G.; Davies-Coleman, M. T. New metabolites from the South African soft coral *Capnella thyrsoidea*. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 9973–9984.
- (344) Rho, J.-R.; Oh, M.-S.; Jang, K. H.; Cho, K. W.; Shin, J. New xenicane diterpenoids from the gorgonian *Acalycigorgia inermis*. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 540–543.
- (345) Rho, J.-R.; Lee, H.-S.; Seo, Y.; Cho, K. W.; Shin, J. New Xenicane Diterpenoids from the Gorgonian *Acalycigorgia inermis*. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 254–257.
- (346) Ochi, M.; Kataoka, K.; Tatsukawa, A.; Kotsuki, H.; Shibata, K. Biologically active xenicane diterpenoids from the gorgonian *Acalycigorgia* sp. *Heterocycles* **1994**, *38*, 151–158.
- (347) Manzo, E.; Ciavatta, M. L.; Gavagnin, M.; Villani, G.; Quaranta, C.; D'Souza, L.; Cimino, G. A new xenicane norditerpene from the Indian marine gorgonian *Acanthogorgia turgida*. *Nat. Prod. Res.* **2009**, *23*, 1664–70.
- (348) Tanaka, J.; Ogawa, N.; Liang, J.; Higa, T.; DeNys, R.; Bowden, B. F.; Carroll, A. R.; Coil, J. C.; Bernardinelli, G.; Jefford, C. W. Helioxenicins A-C: Diterpenes from the blue coral *Heliopora coerulea*. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 9989–9996.
- (349) Wang, S.; Huang, M.; Duh, C. Cytotoxic constituents from the formosan soft coral *Clavularia inflata* var. *luzoniana*. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1411–6.
- (350) Cairns, S. D.; Calder, D. R.; Brinckmann-Voss, A.; Castro, C. B.; Fautin, D. G.; Pugh, P. R.; Mills, C. E.; Jaap, W. C.; Arai, M. N.; Haddock, S. H. D.; Opresko, D. M. *Common and Scientific Names of Aquatic Invertebrates from the United States and Canada: Cnidaria and Ctenophora, Second Edition, 2002*; American F.; American Fisheries Society: Bethesda, Maryland, USA, 2002; p. xi–115.
- (351) Finer, J.; Clardy, J.; Fenical, W.; Minale, L.; Riccio, R.; Battaile, J.; Kirkup, M.; Moore, R. E. Structures of dictyodial and dictyolactone, unusual marine diterpenoids. *J. Org. Chem* **1979**, *44*, 2044–2047.
- (352) Ishitsuka, M. O.; Kusumi, T.; Kakisawa, H. Antitumor xenicane and norxenicane lactones from the brown alga *Dictyota dichotoma*. *J. Org. Chem* **1988**, *53*, 5010–5013.
- (353) Konig, G. M.; Wright, A. D.; Sticher, O. Diterpenes from the brown alga *dictyota divaricata*. *Phytochemistry* **1991**, *30*, 3679–3682.

- (354) König, G. M.; Wright, A. D.; Sticher, O. New xenicane and hydroazulenoid diterpenes from an Australian collection of *Dictyota divaricata*. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 1399–1410.
- (355) Viano, Y.; Bonhomme, D.; Camps, M.; Briand, J.-F.; Ortalo-Magné, A.; Blache, Y.; Pioveti, L.; Culioli, G. Diterpenoids from the Mediterranean brown alga *Dictyota* sp. evaluated as antifouling substances against a marine bacterial biofilm. *J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 1299–304.
- (356) Viano, Y.; Bonhomme, D.; Ortalo-Magné, A.; Thomas, O. P.; Hattab, M. E.; Pioveti, L.; Blache, Y.; Culioli, G. Dictyotadimer A, a new dissymmetric bis-diterpene from a brown alga of the genus *Dictyota*. *Tet. Lett.* **2011**, *52*, 1031–1035.
- (357) Manzo, E.; Ciavatta, M. L.; Bakkas, S.; Villani, G.; Varcamonti, M.; Zanfardino, A.; Gavagnin, M. Diterpene content of the alga *Dictyota ciliolata* from a Moroccan lagoon. *Phytochem. Lett.* **2009**, *2*, 211–215.
- (358) Schlenk, D.; Gerwick, W. H. Dilophic acid a diterpenoid from the tropical brown seaweed *Dilophus guineensis*. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 1081–1084.
- (359) Bouaicha, N.; Pesando, D.; Puel, D.; Tringali, C. Cytotoxic Diterpenoids from the Brown Alga *Dilophus ligulatus*. *J. Nat. Prod.* **1993**, *56*, 1747–1752.
- (360) Ioannou, E.; Zervou, M.; Ismail, A.; Ktari, L.; Vagias, C. 2, 6-Cyclo-xenicanes from the brown algae *Dilophus fasciola* and *Dilophus spiralis*. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 10565–10572.
- (361) Awad, N. E.; Selim, M. A.; Metawe, H. M.; Matloub, A. A. Cytotoxic xenicane diterpenes from the brown alga *Padina pavonia* (L.) Gaill. *Phytother. Res.* **2008**, *22*, 1610–1613.
- (362) Andrianasolo, E. H.; Haramaty, L.; Degenhardt, K.; Mathew, R.; White, E.; Lutz, R.; Falkowski, P. Induction of apoptosis by diterpenes from the soft coral *Xenia elongata*. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 1551–7.
- (363) Rho, J.-R.; Lee, H.-S.; Seo, Y.; Cho, K. W.; Shin, J. New Xenicane Diterpenoids from the Gorgonian *Acalycigorgia inermis*. [Erratum for 2000, Volume 63]. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1045.
- (364) Kelman, D.; Kashman, Y.; Rosenberg, E.; Kushmaro, A.; Loya, Y. Antimicrobial activity of Red Sea corals. *Mar. Biol.* **2006**, *149*, 357–363.
- (365) Liu, G.; Smith, T. C.; Pfander, H. Synthesis of optically active trans-cyclononenes A possible approach to xenicanes. *Tet. Lett.* **1995**, *36*, 4979–4982.
- (366) Larionov, O. V.; Corey, E. J. An unconventional approach to the enantioselective synthesis of caryophylloids. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 2954–5.
- (367) Renneberg, D.; Pfander, H.; Leumann, C. J. Total synthesis of coraxeniolide-A. *J. Org. Chem* **2000**, *65*, 9069–79.

- (368) Hamel, C.; Prusov, E. V.; Gertsch, J.; Schweizer, W. B.; Altmann, K.-H. Total synthesis of the marine diterpenoid blumiolide C. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 10081–10085.
- (369) Williams, D. R.; Walsh, M. J.; Miller, N. A. Studies for the Synthesis of Xenicane Diterpenes. A Stereocontrolled Total Synthesis of 4-Hydroxydictyolactone. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9038–9045.
- (370) Mushti, C. S.; Kim, J.-H.; Corey, E. J. Total synthesis of antheliolide A. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 14050–2.
- (371) Pollex, A.; Hiersemann, M. Catalytic asymmetric claisen rearrangement in natural product synthesis: synthetic studies toward (-)-xeniolide F. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5705–8.
- (372) Drahl, M. A.; Akhmedov, N. G.; Williams, L. J. Selective conversion of an enantioenriched cyclononadienone to the xeniolide, xenibellol, and florlide cores: an integrated routing strategy. *Tet. Lett.* **2011**, *52*, 325–328.
- (373) Paquette, L. a; Dong, S.; Parker, G. D. Pestalotiopsis A. Side chain installation and exhaustive probing of olefin metathesis as a possible tool for elaborating the cyclononene ring. *J. Org. Chem* **2007**, *72*, 7135–47.
- (374) Xu, J.; Aly, A. H.; Wray, V.; Proksch, P. Polyketide derivatives of endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. isolated from the Chinese mangrove plant *Rhizophora mucronata*. *Tet. Lett.* **2011**, *52*, 21–25.
- (375) Hajos, Z. G.; Parrish, D. R. (+)-(7as)-7a-methyl-2,3,7,7a-tetrahydro-1-H-indene-1,5-(6H-dione). *Org. Synth.* **1990**, *7*, 363–369.
- (376) Corey, E. J.; Mitra, M. B.; Uda, H. Total synthesis of d, l-caryophyllene and d, l-isocaryophyllene. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 485–492.
- (377) Scholl, M.; Ding, S.; Lee, C. W.; Grubbs, R. H. Synthesis and activity of a new generation of ruthenium-based olefin metathesis catalysts coordinated with 1,3-dimesityl-4,5-dihydroimidazol-2-ylidene ligands. *Org. Lett.* **1999**, *1*, 953–6.
- (378) Kingsbury, J. S.; Harrity, J. P. a.; Bonitatebus, P. J.; Hoveyda, A. H. A Recyclable Ru-Based Metathesis Catalyst. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 791–799.
- (379) Lebel, H.; Davi, M. Diazo Reagents in Copper(I)-Catalyzed Olefination of Aldehydes. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 2352–2358.
- (380) Davi, M.; Lebel, H. Copper-catalyzed tandem oxidation-olefination process. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 41–4.
- (381) Nicolaou, K. C.; Mathison, C. J. N.; Montagnon, T. New reactions of IBX: oxidation of nitrogen- and sulfur-containing substrates to afford useful synthetic intermediates. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 4077–82.

- (382) Ganguly, N.; Barik, S. A Facile Mild Deprotection Protocol for 1,3-Dithianes and 1,3-Dithiolanes with 30% Hydrogen Peroxide and Iodine Catalyst in Aqueous Micellar System. *Synthesis* **2009**, 2009, 1393–1399.
- (383) Banerjee, A. K.; Laya, M. S. Reagents for the preparation and cleavage of 1,3-dithiolanes. *Chem. Rev.* **2000**, 69, 947–955.
- (384) Ballini, R.; Petrini, M. A New Procedure for Dethioacetalization via Equilibrium Exchange with Aqueous Acetone, Paraformaldehyde and Amberlyst 15 as Acidic Catalyst. *Synthesis* **1990**, 1990, 336–337.
- (385) Hirano, M.; Ukawa, K.; Yakabe, S.; Morimoto, T. A Convenient Deprotection of 1,3-Dithiane Derivatives with Ferric Nitrate Under Heterogeneous Conditions. *Synth. Commun.* **1997**, 27, 1527–1533.
- (386) Schuster, M.; Blechert, S. Olefin Metathesis in Organic Chemistry. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1997**, 36, 2036–2056.
- (387) Grubbs, R. H.; Sukbok, C. Recent advances in olefin metathesis and its application in organic synthesis. *Tetrahedron* **1998**, 54, 4413–4450.
- (388) Inouye, H.; Ueda, S.; Takeda, Y. Studies on Monoterpene Glucosides and Related Natural Products. XIII. Incorporation of [10-14C]-Sweroside into Gentiopicroside and the Alkaloids in Vinca and Cincona Plants. *Chem. Pharm. Bull.* **1971**, 19, 587–594.
- (389) Pappo, R.; Allen Jr, D.; Lemieux, R.; Johnson, W. Osmium Tetroxide-Catalyzed Periodate Oxidation of Olefinic Bonds. *J. Org. Chem* **1956**, 21, 478–479.
- (390) Newman, M.; Kaugars, G. The Reaction of Cyclopropyl Ketones with Phosphorus Pentachloride. *J. Org. Chem* **1966**, 31, 1379–1383.
- (391) Kreiser, W.; Janitschke, L. Erste Totalsynthese von (–)-„Alben”. *Chem. Ber.* **1979**, 112, 408–422.
- (392) Coates, R. M.; Senter, P. D.; Baker, W. R. Annelative ring expansion via intramolecular [2 + 2] photocycloaddition of .alpha.,.beta.-unsaturated .gamma.-lactones and reductive cleavage: synthesis of hydrocyclopentacyclooctene-5-carboxylates. *J. Org. Chem* **1982**, 47, 3597–3607.
- (393) Lansbruy, P. T.; Haddon, V. R.; Stewart, R. C. Latent homoallylic ions in carbocyclic ring construction. .alpha.-Cedrene. *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, 96, 896–898.
- (394) Knochel, P.; Yeh, M. C. P.; Berk, S. C.; Talbert, J. Synthesis and reactivity toward acyl chlorides and enones of the new highly functionalized copper reagents RCu(CN)ZnI. *J. Org. Chem* **1988**, 53, 2390–2392.
- (395) Knoess, H. P.; Furlong, M. T.; Rozema, M. J.; Knochel, P. Preparation and reactions of zinc and copper organometallics bearing acidic hydrogens. *J. Org. Chem* **1991**, 56, 5974–5978.

- (396) Knochel, P.; Singer, R. D. Preparation and reactions of polyfunctional organozinc reagents in organic synthesis. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2117–2188.
- (397) Knochel, P.; ALMENA, P.; Jones, P. Organozinc mediated reactions. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 8275–8319.
- (398) Kharasch, M. S.; Weinhaus, S. Grignard reagents - Their reducing action and rates of addition. *J. Org. Chem* **1936**, *1*, 209–230.
- (399) Corey, E. J.; Seebach, D. Carbanions of 1,3-Dithianes. Reagents for C-C Bond Formation by Nucleophilic Displacement and Carbonyl Addition. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1965**, *4*, 1075–1077.
- (400) Eliel, E. L.; Hatmann, A. A. A Convenient Synthesis of alpha -Keto Esters. *J. Org. Chem* **1972**, *37*, 505–506.
- (401) Yus, M. The role of 1,3-dithianes in natural product synthesis. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 6147–6212.
- (402) Hatch, R. P.; Shringarpure, J.; Weinreb, S. M. Studies on total synthesis of the olivomycins. *J. Org. Chem* **1978**, *43*, 4172–4177.
- (403) Sih, J. C. Synthesis of six-membered-ring analogs of 6.alpha.-carba-PGI₂. *J. Org. Chem* **1982**, *47*, 4311–4315.
- (404) Seebach, D. Methods of Reactivity Umpolung. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1979**, *18*, 239–258.
- (405) Kinoshita, M.; Taniguchi, M.; Morioka, M.; Takami, H.; Mizusawa, Y. Synthetic studies of amphotericin B. III. An enantiospecific synthesis of the C-1-C-19 segment of the amphotericin B aglycon. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1988**, *61*, 2147–2156.
- (406) Frisch, A. C.; Beller, M. Catalysts for cross-coupling reactions with non-activated alkyl halides. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 674–88.
- (407) Kochi, T.; Ellman, J. a Asymmetric alpha-alkylation of N'-tert-butanesulfinyl amidines. Application to the total synthesis of (6R,7S)-7-amino-7,8-dihydro-alpha-bisabolene. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 15652–3.
- (408) Guérinot, A.; Reymond, S.; Cossy, J. Iron-catalyzed cross-coupling of alkyl halides with alkenyl grignard reagents. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 6521–4.
- (409) Cahiez, G.; Avedissian, H. Highly Stereo- and Chemoselective Iron-Catalyzed Alkenylation of Organomagnesium Compounds. *Synthesis* **1998**, *1998*, 1199–1205.
- (410) Kalinski, C.; Lemoine, H.; Schmidt, J.; Burdack, C.; Kolb, J.; Umkehrer, M.; Ross, G. Multicomponent Reactions as a Powerful Tool for Generic Drug Synthesis. *Synthesis* **2008**, *24*, 4007–4011.

Titre de la thèse : Les sécoiridoïdes d'*Olea europaea* et du *Lonicera tatarica* : matières premières destinées à la conception de nouveaux synthons chiraux pour la synthèse de composés biologiquement actifs et outils pour le développement de nouvelles méthodes d'extraction et de synthèse.

Résumé : Les sécoiridoïdes sont des monoterpènes hautement fonctionnalisés utilisés comme matières premières chirales renouvelables en hémisynthèse, lorsqu'ils sont abondants au sein des végétaux. Un nouveau procédé vert d'extraction aqueuse et de purification utilisant des résines et la chromatographie de partage centrifuge a permis l'isolement de plus de 100 g d'oleuropéine des feuilles d'*Olea europaea* et d'une douzaine de grammes de sécologanoside et de sweroside des feuilles de *Lonicera tatarica*. L'ouverture de la lactone du perpivaloylsweroside a été effectuée en milieu organique apolaire par le TMSNa. Cette réaction a été étendue à 8 lactones commerciales et 5 lactones de sécoiridoïdes. Une approche mécanistique de cette nouvelle réaction a été établie sur la γ -butyrolactone à l'aide d'une étude cinétique. Cette réaction a été utilisée pour la conversion du sweroside en sécologanoside en quatre étapes. Cette approche séquentielle a été appliquée avec succès sur les dérivés du sweroside. Quatre nouveaux analogues du sécologanoside et 9 synthons chiraux originaux ont ainsi été isolés. De plus l'étude de la réactivité de l'oleuropéine a permis l'obtention de 4 nouveaux synthons et un analogue isomérique du sécologanoside. Ces analogues de sécologanoside sont précurseurs de nouveaux alcaloïdes indolo-monoterpéniques. Enfin la double liaison exocyclique du sweroside a pu être sélectivement ozonolysée et épimérisée pour conduire à la formation d'un synthon clé pour la synthèse de diterpènes cytotoxiques marins de types xénicanes.

Title : Secoiridoids from *Olea europaeae* and *Lonicera tatarica* as chiral synthon for bioactive compounds synthesis and as a tool for new extraction and synthetic methodologies development

Summary: Secoiridoids are highly functionalized monoterpenes and can be used as renewable raw materials in semi-synthesis when they are abundant in plants. A new green process of water extraction and purification by resins or centrifugal partition chromatography allowed the isolation of more than 100 g of oleuropein from *Olea europaea* leaves and a dozen of grams of secologanin and sweroside from *Lonicera tatarica* leaves. The lactone ring opening of perpivaloylsweroside was achieved in apolar solvents by TMSNa. The scope of this reaction was extended to 8 commercial lactones and 5 secoiridoid lactones. A mechanistic approach of this new reaction on γ -butyrolactone was established by kinetic studies. This reaction was used for the conversion of perpivaloylsweroside into secologanin, in four steps. This approach was successfully applied on sweroside derivatives. Four enantiopure secologanin analogs and 9 chiral synthons were isolated. Furthermore the reactivity study of oleuropein afforded 3 new synthons and one isomeric analog of secologanin. These secologanin analogs are synthetic precursors of new indolo-monoterpenic alkaloids. Finally the exocyclic double bond of sweroside was selectively ozonolyzed and epimerized to yield a key synthon for the synthesis of cytotoxic marine diterpenes xenicans.

Discipline : Chimie des Substances Naturelles, Pharmacognosie

Mots-clefs : sécologanoside, sweroside, oleuropéine, TMSNa, synthons chiraux, xénicanes

Adresse de l'auteur : Laboratoire de Pharmacognosie UMR/CNRS 8638 – Université Paris Descartes – Faculté des sciences Pharmaceutiques et Biologiques – 4, avenue de l'Observatoire 75006 Paris

Adresse électronique : hugues.lemoine@parisdescartes.fr, hugues.lemoine@cpe.fr